

## Escarificación de semillas de *Indigofera hirsuta* (Linneaus), *Canavalia maritima* (Thouars) y *Crotalaria longirostrata* (Hook)

Scarification treatments in *Indigofera hirsuta* (Linneaus), *Canavalia maritima* (Thouars) and *Crotalaria longirostrata* (Hook) seeds

L. Ayala-Herrada, M. Villafaña-Cruz, B. Pinacho-Lopez,  
J. Arroyo-Ledezma y H. Magaña-Sevilla

Universidad del Mar Campus Puerto Escondido, Ciudad Universitaria.  
Km 3.5 Carretera Puerto escondido Sola de Vega, Puerto Escondido.  
Oaxaca cp 70902. México.

### Resumen

El objetivo del estudio fue determinar los mejores tratamientos de escarificación para propiciar la germinación en semillas de *Indigofera hirsuta*, *Canavalia marítima* y *Crotalaria longirostrata*. Las semillas fueron colectadas en la región de la costa de Oaxaca, México, y sometidas a los siguientes tratamientos según la especie: *C. Maritima* los tratamientos fueron los siguientes: Químico 0 (testigo), 10, 15 20, 30, 40 y 60 minutos en ácido sulfúrico al 98% y físico, lijado de las semillas. Para *I. hirsuta* se utilizaron dos tiempos de inmersión en agua de 12 ó 24 horas y químico de 0 (testigo) 20, 30 y 60 minutos en ácido sulfúrico. Para *C. longirostrata* 0 (testigo), 20, 30 y 60 minutos en ácido sulfúrico. Se utilizaron 4 réplicas de 100 semillas por tratamiento los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza y de regresión. En *C. maritima*, el mayor porcentaje de germinación a los 7 días se consiguió con escarificación mecánica ( $46\pm2,71\%$ ) y para *I. hirsuta* y *C. longirostrata* 20 minutos ( $93\pm3,37\%$ ) y 60 minutos ( $99\pm1,16\%$ ) en ácido sulfúrico en agitación, respectivamente. Las semillas de *Canavalia* pueden ser lijadas fácilmente y las semillas de menor tamaño como la *I. hirsuta* y la *C. longirostrata* pueden escarificarse con ácido sulfúrico, siendo tratamientos viables para aplicación en campo.

**Palabras clave:** Escarificación, Semillas, Germinación, *Indigofera hirsuta*, *Canavalia maritima*, *Crotalaria longirostrata*

## Abstract

The Objective of this work was to determine optimal scarification treatment for seeds from *Indigofera hirsuta*, *Canavalia maritima* y *Crotalaria longirostrata*. Seeds were collected in 3 tropical locations at the Coastal région of Oaxaca, México, in order to analyze their response to scarification methods. Each treatments was of 4 groups of 100 seeds, for *C. maritima* the following were used: 0 (control), 10, 15, 20, 30, 40 y 60 minutes in sulfuric acid, and a mechanical treatment. In *I. hirsuta* two times of immersion were used, 12 and 24 hours y chemical, 0 (control), 20, 30 y 60 minutes in sulfuric acid and with *C. longirostrata* 0 (control), 20, 30 and 60 minutes en sulfuric acid. An ANOVA was performed. Higher number of germinated seed was achieved in *C. maritima* seeds with mechanical scarification ( $46\pm2.71\%$ ) *I. hirsuta* and *C. Longirostrata* seeds with 20 minutes ( $93\pm3.37\%$ ) and 60 minutes ( $99\pm1.16\%$ ) en sulfuric acid has the best results.

**Key words:** Scarification, seeds, germination, *Indigofera hirsuta*, *Canavalia marítima*, *Crotalaria longirostrata*.

## Introducción

La alimentación de los rumiantes en el trópico depende de los forrajes disponibles y la calidad de éstos. *Indigofera hirsuta*, *Canavalia marítmia* y *Crotalaria longirostrata* tienen buena adaptación en la región de la costa de Oaxaca, México. Empero, deben realizarse estudios agronómicos y nutricionales para poder aprovechar estos recursos ya sea como alimento para rumiantes o como abono verde.

Las semillas de leguminosas presentan dormancia (bloqueo de la germinación de la semilla) hasta que las condiciones lo permitan (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006). La mayor parte de las semillas presentan dormancia fisiológica, aunque la dormancia por causas físicas y físico fisiológicas también responden a métodos de escarificación (Baskin y Baskin, 2004) que disminuyen la efec-

## Introduction

The ruminant feeding in tropic depends on available forages and its quality. *Indigofera hirsuta*, *Canavalia marítima* and *Crotalaria longirostrata* have a good adaptability in region of Oaxaca coast, México. The agronomical and nutritional studies have to be made for taking advantage these resources as well ruminant food as green manure.

Leguminous seeds shows dormancy (seed germination block) until conditions make it possible (Finch-Savage and Leubner-Metzger, 2006). The higher part of seeds shows physiological dormancy, although dormancy by physical and physiological causes also respond to scarification methods (Baskin and Baskin, 2004) that diminish the barriers effectiveness avoiding the water pass to the interior to begin the germination process.

tividad de las barreras que impiden el paso de agua al interior para iniciar el proceso de germinación.

Los métodos de escarificación pueden ser químicos con ácidos y bases; mecánicos como frotar las semillas con lija o someter a lijado con arena fina en una revolvedora o en una licuadora; físicos como imbibición en agua, agua caliente; tratamientos con temperaturas entre otros (Susko, *et al.*, 2001). Establecer el mejor método de escarificación permite obtener un método de propagación eficiente que genere un alto número de plantas en menor tiempo.

*Indigofera hirsuta* L. es una leguminosa anual nativa del trópico de Asia, produce semillas que poseen testa dura y un porcentaje de germinación entre 10-20%, algunas de éstas pueden germinar en el mismo año y otras en el año siguiente (Rich, *et al.*, 2003).

La *Canavalia marítima* es una planta que se presenta en las dunas costeras de México. Forma una cobertura para el suelo, con tolerancia a las condiciones secas y suelos arenosos y salinos (Pinacho-Lopez, *et al.*, 2009).

Las semillas del chepil (*Crotalaria longirostrata*) son dispersadas intencionalmente en los terrenos de cultivo y en barbechos. También se realizan prácticas dirigidas a mantener el chepil dentro de ambientes antropogénicos, cuando existe antes de que el medio sea transformado por el hombre (Soto-Estrada, 2004).

El objetivo del presente estudio fue evaluar diferentes tratamientos para la escarificación de semillas de *Indigofera hirsuta*, *Canavalia marítima* y *Crotalaria Longirostrata* y de-

The scarification methods can be chemical with acids and bases; mechanical like to rub seeds with sand or to sand in a blender with fine sand; physical like imbibition in water, hot water; treatments with temperatures among others (Susko *et al.*, 2001). To establish the best scarification method permit to obtain a efficient propagation method generating a high number of plants in low time.

*Indigofera hirsuta* L. is an annual leguminous native from Asia tropic, produce seeds with hard head and a germination percentage between 10-20%, some of these can germinate in the same year and others in the following year (Rich *et al.*, 2003).

*Canavalia marítima* is a plant of coast dunes of México. It form a cover for soil, tolerant to dry conditions and sandy and saline soils (Pinacho-Lopez *et al.*, 2009).

"Chipilin" seeds (*Crotalaria longirostrata*) are intentionally dispersed in crop lands and in fallows. Practices guided to maintain "Chipilin" as a part of anthropogenic environments, when exist before medium be changed by man (Soto-Estrada, 2004).

The objective of this study was to evaluate different treatments for seeds scarification *Indigofera hirsuta*, *Canavalia marítima* and *Crotalaria Longirostrata* and to determine the adequate treatment each specie.

## Materials and methods

The species selected for this study were placed in different regions

terminar el tratamiento adecuado para cada especie.

## Materiales y métodos

Las especies seleccionadas para este estudio se localizaron en distintas regiones de la costa de Oaxaca con un clima AW0, y entre 0 y 6 msnm. Vainas de *Canavalia marítima* fueron colectadas en las dunas costeras de Puerto Escondido ( $15^{\circ}51'57.83''$  N y  $97^{\circ}05'37.43''$  O). Las semillas de *Indigofera hirsuta* se colectaron en el campo experimental de la Universidad del Mar en Bajos de Chila ( $15^{\circ}55'27.54''$  N y  $97^{\circ}09'04.09''$  O), las semillas de *Crotalaria longirostrata* fueron cosechadas en la localidad de Mazunte ( $15^{\circ}39'51.26''$  N y  $96^{\circ}33'18.72''$  O). Las colectas se realizaron durante el mes de Octubre de 2008.

Los tratamientos de escarificación se aplicaron en el laboratorio de biología de la Universidad del Mar, Campus Puerto Escondido. Los tratamientos fueron seleccionados en función del tamaño de la semilla, la dureza de la testa e información previa sobre la biología de las especies buscando en todos los casos romper algún tipo de latencia (Godínez y Flores, 1999), así, semillas de *Canavalia marítima* se sometieron a ocho tratamientos: Testigo (sin escarificar); ácido sulfúrico al 98% con agitación constante por 10, 15, 20 , 30 , 40 ó 60 minutos (Ayala, *et al.*, 2009) y el lijado de las semillas (Nellis, 1994), utilizando papel lija para madera con grano de 150, sobre un extremo de la semilla hasta que un área de 1 mm de diámetro del endospermo fue visible.

of the Oaxaca coast with AW0 climate, between 0 and 6 masl. Pods of *Canavalia marítima* were located in coast dunes of "Puerto Escondido" ( $15^{\circ}51'57.83''$  N and  $97^{\circ}05'37.43''$  W). Seeds of *Indigofera hirsuta* were located in the experimental field of the Universidad del Mar, "Bajos de Chila" ( $15^{\circ}55'27.54''$  N and  $97^{\circ}09'04.09''$  W), seeds of *Crotalaria longirostrata* were harvested in "Mazunte" ( $15^{\circ}39'51.26''$  N and  $96^{\circ}33'18.72''$  W). Collects were accomplished during October 2008.

The scarification treatments were carried out in the Biology laboratory, Universidad del Mar, Campus "Puerto Escondido". Treatments were selected as a function of seed size, the head hardness and previous information about species biology looking for breaking any type of latency (Godínez and Flores, 1999), thus, seeds of *Canavalia marítima* were subjected to 8 treatments: Control (without scarifying); sulphuric acid to the 98% with constant agitation of 10, 15, 20 , 30 , 40 or 60 min (Ayala *et al.*, 2009) and the seeds sanding (Nellis, 1994), using sand paper for wood with a grain of 150, on a seed extreme until an area of 1 mm diameter of endosperm was visible.

In case of *Indigofera hirsuta*, treatments used were 6: water imbibition during 12 or 24 hours (Portillo *et al.*, 2005); sulphuric acid to 98% by 0 (control) 20, 30 or 60 min being constantly agitated with a glass stick (Contreras- Rodriguez *et al.*, 2005). Mechanic methods were discarded according to the results reported by other researchers (Chachtai *et al.*, 1978).

En el caso de la *Indigofera hirsuta*, los tratamientos empleados fueron 6: imbibición en agua por 12 ó 24 horas (Portillo *et al.*, 2005); ácido sulfúrico al 98% por 0 (testigo) 20, 30 ó 60 minutos agitando constantemente con una varilla de vidrio (Contreras-Rodríguez *et al.*, 2005). Se descartó utilizar métodos mecánicos según los resultados reportados por otros investigadores (Chachtaí *et al.*, 1978).

Las semillas de *Crotalaria longirostrata* se sometieron a 4 tratamientos, similares a lo realizados en otras crotalarias (Contreras-Rodríguez, *et al.*, 2005): Testigo, sin escarificar; ácido sulfúrico al 98% durante 20, 30 ó 60 minutos con movimiento constante, con una varilla de vidrio. Para remover el ácido sulfúrico las semillas fueron retenidas en un tamiz metálico normalizado ASTM 40 y luego lavadas con agua corriente.

Después de la escarificación, las semillas se colocaron en cajas petri con papel humedecido abajo y arriba, y se mantuvieron húmedas aplicando agua destilada.

Por el tamaño de las semillas de la *C. maritima* cada tratamiento se realizó por cuadruplicado en cápsulas de petri de 150 x 20 mm, siendo cada repetición de 2 cápsulas con 50 semillas cada una, con un total de 100 semillas por repetición. Para las otras especies se utilizaron 100 semillas por cápsula petri, con cuatro réplicas por tratamiento.

Se realizaron conteos de las plantas germinadas a los 4 y 7 días, este último dato se tomó como la germinación total. Se aplicó un diseño experimental completamente al azar. Los datos fueron analizados con

Seeds of *Crotalaria longirostrata* were subjected to 4 treatments similar to those made in other crotalarias (Contreras-Rodríguez *et al.*, 2005): Control, without scarifying; sulphuric acid to 98% during 20, 30 or 60 min with constant movement, with a glass stick. To remove the sulphuric acid seeds were retained in a metallic sieve normalized ASTM 40 and after washed with run water.

After scarification, seeds were placed on Petri dishes with humid paper up and down, and they keep humid applying distilled water.

According to the seeds size of *C. maritima* each treatment was made by quadruplicate in Petri dishes of 150 x 20 mm, being each replication of 2 capsules with 50 seeds each, with a total of 100 seeds by replication. For the other species, 100 seeds by Petri dish were used, with four replicates by treatment.

Counts of germinated plants were done at 4 and 7 days, the last piece of information was taken like total germination. A totally at random and experimental design was applied. Data were analyzed through an ANOVA using the statistical software SPSS 15.0.1 (SPSS Inc.), with the Tukey mean test. Also, regression analysis was accomplished between germinated seeds and time in sulphuric acid for *Crotalaria longirostrata* and *Canavalia maritima* with Prism 5.0 program (Graphpad Software, San Diego, USA). Variable to be measured was the number of germinated seeds (with visible radicle) by treatment.

un ANOVA utilizando el software estadístico SPSS 15.0.1 (SPSS Inc.), con la prueba de medias de Tukey. Se realizaron además análisis de regresión entre las semillas germinadas y el tiempo en ácido sulfúrico para *Crotalaria longirostrata* y *Canavalia maritima* con el programa Prism 5.0 (Graphpad Software, San Diego, USA). La variable a medir fue el número de semillas germinadas (con radícula visible) por tratamiento.

## Resultados y discusión

En la literatura, no hay unanimidad en el fenómeno de dormancia, la variedad de ideas acerca de la dormancia se refleja en el número de clasificaciones empleadas por varios autores (Bewley y Black, 1994); empero, para fines prácticos necesitamos predecir la germinación de las semillas para establecer los cultivos de las diferentes especies vegetales.

No se encontraron diferencias en las semillas germinadas de las especies estudiadas entre 4 y 7 días ( $P>0.05$ ), con vistas al establecimiento de cultivos uniformes se tomó el criterio de germinación a una semana para evaluar el tratamiento de escarificación.

Para *C. maritima* el mejor resultado se obtuvo con el tratamiento mecánico (lijado de las semillas). El testigo fue similar a los tratamientos con ácido sulfúrico, excepto el de 60 minutos (cuadro 1). La aplicación de  $H_2SO_4$  de 15 hasta 60 minutos resultó en cantidades similares de semillas germinadas ( $P<0.05$ ).

Para las semillas de *C. maritima* el análisis de regresión resultó

## Results and discussion

In literature, there is no unanimity in dormancy phenomenon, the ideas variety about dormancy is reflect on number of classifications used by several authors (Bewley and Black, 1994); however, for practical purposes is needed to predict seed germination to establish cultivation of different vegetal species.

Differences were not found in germinated seeds the species studied between 4 and 7 days ( $P>0.05$ ), looking for the establishment of uniform crops, the germination criterion was taken one week before the evaluation of scarification treatment.

For *C. maritima*, the best result was obtained with mechanical treatment (seeds sanding). Control was similar to treatments with sulphuric acid, except those of 60 min (table 1). The application of  $H_2SO_4$  of 15 until 60 min gave as a result similar quantities of germinated seeds ( $P<0.05$ ).

For *C. maritima* seeds, the regression analysis were statistically significant ( $P<0.01$ ) for square effects with  $R^2$  of 0.91 (figure 1). By using the equation of square regression to predict the estimated value of x (time) which exceeds 90% of germinated seeds, a value of 180 min was obtained, although it is possible since the mathematical point of view, there is a risk of damaging the embryo.

However, other plants of coast dunes have received scarification times of 180 min (Jung-Moon *et al.*, 2004) with germination percentages of 100%. Nevertheless, it is possible

Cuadro 1. Efecto del tratamiento de escarificación sobre la germinación de las semillas de leguminosas (germinadas por cada 100) evaluadas en la Costa de Oaxaca.

Table 1. Effect of scarification treatment on leguminous seed germination (germinated by each 100) evaluated at the Oaxaca cost.

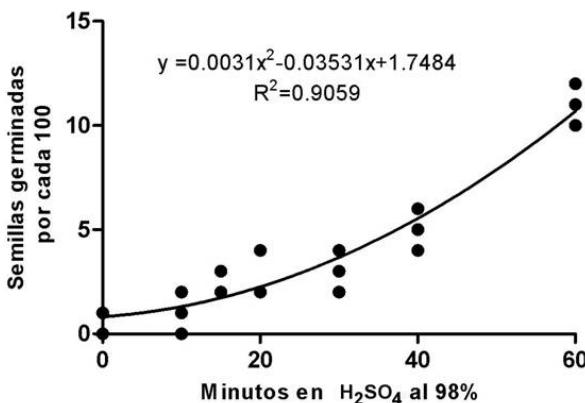
Tratamiento	<i>Canavalia maritima</i>		<i>Indigofera hirsuta</i>		<i>Crotalaria Longirostrata</i>	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE
Testigo	0,50 <sup>a</sup>	-	0,58	-	0,05	2,00 <sup>a</sup>
Imbibición 12h	-	-	0,25 <sup>a</sup>	0,5	-	-
Imbibición 24h	-	-	0,50 <sup>a</sup>	1,00	-	-
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 10 min	0,75 <sup>a</sup>	0,96	-	-	-	-
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 15 min	2,75 <sup>ab</sup>	0,50	-	-	-	-
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 20 min	3,00 <sup>ab</sup>	1,16	93,00 <sup>b</sup>	3,37	27,50 <sup>b</sup>	11,24
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 30 min	3,25 <sup>ab</sup>	0,96	93,00 <sup>b</sup>	4,24	55,00 <sup>c</sup>	18,07
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 40 min	4,75 <sup>ab</sup>	0,96	-	-	-	-
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 60 min	11,00 <sup>b</sup>	0,82	92,75 <sup>b</sup>	2,63	99,00 <sup>d</sup>	1,15
Lijadas	46,00 <sup>c</sup>	2,71	-	-	-	-

estadísticamente significativo ( $P<0,01$ ) para efectos cuadráticos, con  $R^2$  de 0,91 (figura 1). Utilizando la ecuación de la regresión cuadrática para predecir el valor estimado de x (tiempo) al que se sobrepasa el 90% de semillas germinadas se obtuvo un valor de 180 minutos, aunque matemáticamente es posible, existe el riesgo de dañar el embrión.

Sin embargo, otras plantas de las dunas costeras han recibido tiempos de escarificación de 180 minutos (Jung-Moon *et al.*, 2004) con porcentajes de germinación del 100%. Empero, es posible que la respuesta máxima de la germinación de la semilla a la escarificación sea la alcanzada por el lijado de la misma, ya que la semilla es sensible también a cambios en el fotoperiodo (Cuzzuol y Lucas, 1999). Al ser cosechadas y almacenadas para luego hacer la escarificación, las se-

that the maximum response seed germination to the scarification be those reached by sanding, because seed is also sensible to changes in photo period (Cuzzuol and Lucas, 1999). When seeds are harvested and stored for scarification is done, seeds do not receive light stimulus helping with physiological dormancy, being the result those germinated seeds answering to the continuity losses in seeds barriers. In that case, two hours could be the time to scarifying on acid, thus, 45.06 % of germination, similar to sanding seeds.

There are reports of high emergence rates when sowing is made with green seeds (Nellis, 1994). However, the use of green seeds or soaking in hot water requires of an immediate sowing, whereas the use of acid or mechanical scarification gives a margin close to 3 days, in this



**Figura 1.** Semillas germinadas de *Canavalia maritima* por tiempo de exposición al ácido sulfúrico al 98% y su regresión cuadrática ( $P<0,05$ ).

**Figure 1.** Seeds germinated of *Canavalia maritima* by exposition time to the sulphuric acid to 98% and its square regression ( $P<0.05$ ).

millas no reciben estímulos de luz que ayuden con la dormancia fisiológica, siendo el resultado las semillas germinadas que podían responder a la perdida de continuidad en las barreras de la semilla. En ese caso, dos horas podría ser el tiempo a escarificar en ácido, con lo que se obtendría un 45,06% de germinación, similar al de las semillas lijadas.

Hay reportes de elevadas tasas de emergencia cuando la siembra se realiza con semillas verdes (Nellis, 1994). Sin embargo, el uso de semillas verdes o de remojo en agua caliente requiere de la siembra de manera inmediata, mientras que el uso de ácido o escarificación mecánica da un margen de hasta 3 días, ya que en este trabajo al día cuatro se presenta la respuesta inicial en la germinación. Enterrar la semilla es uno de los estímulos para su germinación en su estado natural (Martínez *et al.*, 2002) y otro estímulo es la temperatura (Cuzzuol y Lucas, 1999) ya que las semillas de *C. marítima* germinan a una temperatura de 25°C, proceso optimizado con temperaturas alternadas de 25/30°C. En especies relacionadas como *C. brasiliensis*, tratamientos de escarificación se consideran necesarios para romper la dureza de las cubiertas de las semillas, con resultados de 80% de germinación con 75 minutos de ácido sulfúrico, y 50% utilizando agua caliente a 80°C. (Cruz *et al.*, 1995).

Utilizar el remojo en agua como medio para propiciar la imbibición por la semilla, es un método que no estimuló la germinación a los 7 días en *I. hirsuta* (cuadro 1), con resultados similares al testigo a diferencia de otros

research, the fourth day is observed the initial response in germination. To burn seed is one of stimuli for its germination in its natural state (Martínez *et al.*, 2002) and other stimuli is temperature (Cuzzuol and Lucas, 1999) because seeds of *C. marítima* germinate at a temperature of 25°C, optimized process with alternate temperatures of 25/30°C. In species related like *C. brasiliensis*, scarification treatments are consider necesariy to break the hardness of seeds covers, with results of 80% of germination with 75 min of sulphuric acid and 50% using hot water at 80°C. (Cruz *et al.*, 1995).

To use the water soaking as a medium to propiciate imbibition by seed, is a method that did not stimulated germination at 7 days in *I. hirsuta* (table 1), with similar results to control difference of other reports (Portillo *et al.*, 2005) who showed germination percentages closed to 36% with imbibition into water. Nevertheless, when seeds are subjected to a chemical scarification treatment during 20 min, they answered with percentages higher than 93%. An statistical difference was not observed between time of 60 min in sulphuric acid and times of 20 or 30 min (figure 2), showing that 20 min are enough to scarifying seed.

Other authors (Portillo *et al.*, 2005) found that in *I. Hirsuta*, the water soaking during 48 h showed the higher value with 36% of germination percentage, followed by treatments 24 and 12 h with 28 and 29% respectively, and treatment of 0 h with 20%, although statistically only treatment of 48 h is different to con-

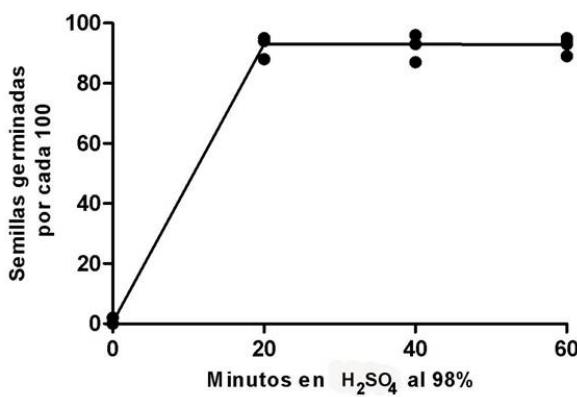
reportes (Portillo *et al.*, 2005) quienes reportaron porcentajes de germinación de hasta 36% con imbibición en agua. Sin embargo, al someter las semillas a un tratamiento de escarificación química por 20 minutos respondieron con porcentajes mayores al 93%. No se apreció una diferencia estadística entre el tiempo de 60 minutos en ácido sulfúrico y los tiempos de 20 ó 30 minutos (figura 2), indicando que veinte minutos son suficientes para escarificar la semilla.

Otros autores (Portillo *et al.*, 2005) encontraron que en la *I. hirsuta* que el remojo en agua por 48 h presentó el mayor valor con 36% de porcentaje de germinación, seguido por los tratamientos 24 h y 12 h con 28 y 29% respectivamente y el tratamiento de 0 h con 20%, aunque estadísticamente sólo el tratamiento de 48 h es diferente al testigo. Sus resultados son superiores a los reportados por otros autores (Rich *et al.*,

trol. Its results are superior to those reported by other authors (Rich *et al.*, 2003) who obtained germination percentages of 10 to 20% without applying any scarification method, showing that water imbibition treatment improves germinative behavior of this specie.

The percentage of germinated seeds in this study was lower in case on imbibition, because in control treatment the soaked seeds at 12 and 24 h did not show statistical differences ( $P<0.01$ ) one answer in average of germinated seeds. However, seeds of same lot when be scarified with sulphuric acid during 20 and 60 min showed more than 90% germination.

For *I. hirsuta* seeds, the sulphuric acid treatment permit to obtain the best results in germinated seeds, showing that dormancy is only physical, not physiological and treatment with acid is efficient when acts on external layers of seed.



**Figura 2. Semillas germinadas (por cada 100) de *Indigofera hirsuta* por tiempo de exposición al ácido sulfúrico al 98%.**

**Figure 2. Seeds germinated (each 100) of *Indigofera hirsuta* by exposition time to the sulphuric acid to 98%.**

2003) que obtuvieron porcentajes de germinación de 10 a 20% sin aplicar ningún método de escarificación, indicando que el tratamiento de imbibición con agua mejora el comportamiento germinativo de esta especie.

En el presente estudio se observó que el porcentaje de semillas germinadas es menor en el caso de la imbibición, ya que el tratamiento testigo y las semillas remojadas a 12 y 24 h no presentaron diferencias estadísticas ( $P<0,01$ ) una respuesta en el promedio de semillas germinadas. Sin embargo, las semillas del mismo lote al ser escarificadas con ácido sulfúrico durante 20 y 60 minutos presentaron más del 90% de germinación.

Para las semillas de *I. hirsuta* el tratamiento con ácido sulfúrico permite obtener los mejores resultados en semillas germinadas, indicando que la dormancia es únicamente física, no fisiológica y el tratamiento con ácido es eficiente actuando sobre las capas externas de la semilla.

Aunque en las semillas de *Crotalaria longirostrata* tratadas con ácido durante 20 y 30 minutos se presentaron resultados diferentes en las réplicas, en el tratamiento de 60 minutos la dispersión de la respuesta es menor.

En especies de crotalaria se han realizado diversos trabajos de escarificación, por el valor que algunas presentan para reforestar suelos degradados. Sin embargo, trabajos realizados para escarificar las semillas son escasos. La importancia que tiene la planta en la alimentación humana en el área mesoamericana, ha derivado en prácticas culturales que pueden ser mejoradas utilizando métodos de es-

Although in seeds of *Crotalaria longirostrata* acid treated during 20 and 30 min, different results were obtained in replications, in treatment of 60 min, the answer dispersion is lower.

In crotalaria species several scarification researchers have been carried out, because the value of some of them shows for reforesting degraded soils. Nevertheless, there is not a lot of researches done to scarifying seeds. The importance of plant in human feeding in Mesoamerican area, have derived on cultural practices that could be improved using scarification methods, offering feeding and other aspects (Vázquez-García *et al.*, 2004). For *C. pumila*, germination percentages closed to 100% have been reported, with a sulphuric acid treatment during 60 min (Contreras-Rodríguez *et al.*, 2005); similar values to those obtained in this study, showing that without scarification, the germination percentage would be invalid.

In *Crotalaria longirostrata* the response of germinated seeds number by each 100 seeds treated shows a linear relationship ( $P<0,05$ ,  $R^2=93\%$ ) in response to the application time of sulphuric acid, percentages until 100 are obtained with 60 min of seeds soaking (figure 3).

## Conclusions

Seeds of plants studied shows dormancy that is not affected by the humidity stimulus. To carry out the sowing of these varieties, it is recommend that seeds of *Canavalia maritima* receive mechanical

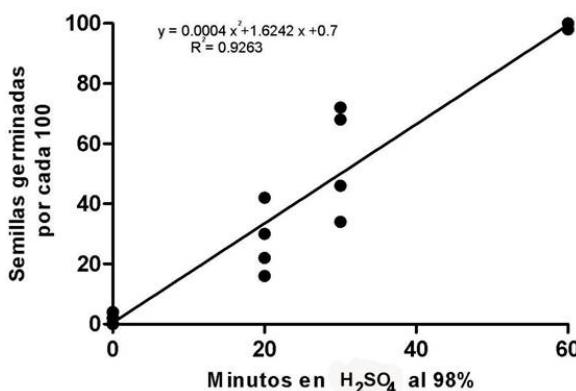
carificación, proporcionando así alimento e ingresos adicionales (Vázquez-García *et al.*, 2004). Para *C. pumila* se han reportado porcentajes de germinación cercanos al 100% tratando con ácido sulfúrico por 60 minutos (Contreras- Rodriguez *et al.*, 2005), valores similares a los que obtenidos en este estudio, indicando también que sin escarificación, el porcentaje de germinación sería nulo.

En la *Crotalaria longirostrata* la respuesta del número de semillas germinadas por cada 100 semillas tratadas presenta una relación lineal ( $P<0,05$ ,  $R^2=93\%$ ) en respuesta al tiempo de aplicación del ácido sulfúrico, porcentajes de hasta 100 se lográn con 60 minutos de remojo de las semillas (figura 3).

scarification, practical treatment by seeds size, the chemical treatment is suitable for small seeds of *Crotalaria Longirostrata* (60 min) and 20 min for *Indigofera hirsuta*. Signs of dormancy were found in case of *C. Maritima* which besides of being physical because the hardness of episperm is also physiological, whereas dormancy in seeds of *C. Longirostrata* and *I. Hirsuta* is mainly caused by the head integrity.

*End of english version*

---



**Figura 3.** Semillas germinadas de *Crotalaria longirostrata* por tiempo de exposición al ácido sulfúrico al 98% y su regresión lineal ( $P<0,05$ ).

**Figure 3.** Seeds germinated of *Crotalaria longirostrata* by exposition time to the sulphuric acid to 98% and its lineal regression ( $P<0.05$ ).

## Conclusiones

Las semillas de las plantas estudiadas presentan dormancia que no se ve superada por el estímulo de la humedad. Para realizar la siembra de estas variedades se recomienda que las semillas de *Canavalia maritima* reciban escarificación mecánica, tratamiento práctico por el tamaño de la semilla, el tratamiento químico es recomendable para las semillas pequeñas de *Crotalaria Longirostrata* (60 minutos) y 20 minutos para *Indigofera hirsuta*. Se encontraron indicios de que la dormancia en el caso de la *C. Maritima* ademas de ser física por la dureza del episperma es fisiológica, mientras que la dormancia en semillas de *C. Longirostrata* e *I. Hirsuta* es principalmente debida a la integridad de la testa.

## Literatura citada

- Ayala Herrada, L.L., M.P. Villafaña Cruz, B. Pinacho López, J. Arroyo Ledezma, J. Y H. Magaña Sevilla. 2009. Métodos de escarificación en leguminosas no convencionales. Segundo congreso internacional en ciencias veterinarias y zootecnia, Puebla, México. 270 p.
- Baskin, J.M. y C.C. Baskin. 2004. A classification system for seed dormancy. Seed Science Research. 14: 1-16.
- Bewley, J.D. y M. Black. 1994. Seeds. Physiology of development and germination. Second edition, Springer ed. 445 p.
- Chachtaí, S.A., S.S. Khan y S. Sultan. 1978. Effect of machanical injury on germination of some highly dormant papilionaceous seeds. National academy of science letters, 1(6):199-200.
- Contreras-Rodríguez, S., R. Romo-Campos, A. Muñoz-Urias, y J. Sánchez-Martínez. 2005. Pruebas de germinación de dos leguminosas con potencial para rehabilitar bancos de minería a cielo abierto. Avances de investigación científica . Centro universitario de ciencias bilogicas y agropecuarias, Universidad de guadalajara. 521 p.
- Cruz, M.S.D., E. Pérez Urria, L. Martín, A. Avalos, y C. Vicente. 1995. Factors affecting germination of *Canavalia brasiliensis*, *Leucaena leucocephala*, *Clitoria ternatea* and *Calopogonium mucunoides* seeds. Seed Science and Technology 23(2): 447-454.
- Cuzzuol, G.R.F. y N. Lucas. 1999. Germinação de sementes de *Matelea maritima* (Jack.) Woods (Asclepiadaceae). Rev. bras. Bot. 22(1): 01-07.
- Finch-Savage, W.E. y G. Leubner-Metzger. 2006. Seed dormancy and the control of germination. New Phytologist 171(3): 501 – 523.
- Godínez Alvarez, H. y A. Flores Martínez. 1999. Germinación de 32 especies de plantas de la costa de guerrero, su utilidad para la restauración ecológica. Polibotánica 11:1 – 19.
- Jung-Moon K., P. Hye-Jeong, M. Byeong-Mee y C. Hyeon-Cheol. 2004. Effects of Various Pretreatments on Seed Germination of *Calystegia soldanella* (Convolvulaceae), a Coastal Sand Dune Plant. Journal of Plant Biology, 2004, 47(4) : 396-400
- Martínez M.L., G. Vázquez, D.A. White, G. Thivet y M. Brengues. 2002. Effects of burial by sand and inundation by fresh- and seawater on seed germination of five tropical beach species. Canadian Journal of Botany, 8(4): 416-424
- Nellis D.W. 1994. Seashore Plants of South Florida and the Caribbean: A Guide to Identification and Propagation of Xeriscape Plants. Pineapple Press Inc, 160 pp

- Pinacho Lopez, B., J.R. Sanginés García, J. Arroyo Ledezma y H. Magaña sevilla. 2009. Potencial de *Canavalia maritima* e *Indigofera hirsuta* como forraje para rumiantes. Revista Verde de Agroecología e Desenvolvimento Sustentável, 2(4): 1-4
- Portillo, A., R. Razz, M. Marín y O. Araujo, 2005. Evaluación de la germinación de semillas de *indigofera hirsuta* l. sometidas a imbibición en agua. Archivos latinoamericanos de producción animal 13(1): 206
- Rich, J., D. Wright, J. Marois y D. Sprenkel. 2003. Selected Legumes Used As Summer Cover Crops. ENY-688 (IN483), Department of Entomology and Nematology, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. 6 p.
- Soto-Estrada, C. 2004. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán Fascículo 40. crotalarieae Ed. UNAM, Depto. de biología 40 p.
- Susko, D.J., J.P. Mueller y J.F. Spears. 2001. An evaluation of methods for breaking seed dormancy in kudzu (*Pueraria lobata*). Can. J. Bot. 79(2): 197–203.
- Vázquez-García, V., L. Godínez-Guevara, M. Montes-Estrada, M., y A.S. Ortiz-Gómez. 2004. Los quelites de ixhuapan, veracruz: disponibilidad, abastecimiento y consumo. Agrociencia, Volumen 38, Número 4. 445-455.