

Original Article/Artículo Original

Germination responses of *Moringa oleifera* seeds treated with two scarification methods

Germinación de semillas de *Moringa oleifera* sometidas a dos tratamientos de escarificación

Candelaria-Martínez, B.¹, Vera-López, J.², Chiquini-Medina, R. A.¹, Flota-Bañuelos, C.^{3*}

¹Instituto Tecnológico de Chiná, Calle 11 s/n entre 22 y 28 Chiná, Campeche, México. C.P. 24520

²Colegio de Postgraduados Campus Campeche. Carretera Haltunchén-Ezdna, km 17.5, Sihochac, Champotón, Campeche, México.

³Catedrática-CONACYT, Colegio de Postgraduados Campus Campeche. Carretera Haltunchén-Ezdna, km 17.5, Sihochac, Champotón, Campeche, México.

Cite this paper/Como citar este artículo: Candelaria-Martínez, B., Vera-López, J., Chiquini-Medina, R. A., Flota-Bañuelos, C. (2019). Germination responses of *Moringa oleifera* seeds treated with two scarification methods. *Revista Bio Ciencias* 6, e407. doi: <https://doi.org/10.15741/revbio.06.e407>



ABSTRACT

The effect of soaking in drinking water for 24 h (RA) and fissuring of the seed coat (FT) was tested on the germination percentages of six-month-old *Moringa oleifera* seeds and on the development of seedlings at the nursery stage. A non-scarification treatment (C) was used as control. For each treatment, 10 styrofoam trays with 77 wells were planted. The percentage of germination was measured from day 3 to 15 after sowing. The following were measured on ten seedlings of each tray: height, stem basal diameter and number of branches, every five days from day 16 post-sowing for 25 days. The data were analyzed by ANOVA for repeated measures in time by GLM, and Tukey means test $p < 0.05$. The methods did not affect germination, and it was 80, 78.4 and 73.5 % for RA, C and FT. The height of seedlings treated with RA was higher than FT and C with values of 19.07, 16.44 and 15.62 cm. No effect was observed on stem diameter and number of branches and presented values of 1.7, 1.7 and 1.8 mm, and 4.84, 4.9 and 5.0 mm for C, FT and RA, respectively. The two physical methods of scarification employed do not improve the seed germination

Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: November 27th 2017

Accepted/Aceptado: September 14th 2018

Available on line/Publicado: March 22nd 2019

*Corresponding Author:

Flota-Bañuelos, C, Catedrática-CONACYT, Colegio de Postgraduados Campus Campeche. Carretera Haltunchén-Edzna, km 17.5, Sihochac, Champotón, Campeche, México. Email: cflota@colpos.mx

RESUMEN

Se probó el efecto del remojo en agua potable por 24 h (RA) y fisura de la testa de la semilla (FT) sobre la germinación de semillas de *Moringa oleifera* con seis meses de edad y el desarrollo de plántulas en fase de vivero. Como control se usó un tratamiento sin escarificación (C). Por cada tratamiento se sembraron 10 charolas de unicel con 77 cavidades. Se midió el porcentaje de germinación del día 3 al 15 posterior a la siembra. A 10 plántulas de cada charola se les midió altura, diámetro de tallo basal y número de ramas cada cinco días a partir del día 16 posterior a la siembra durante 25 días. Los datos se analizaron mediante un ANOVA para evaluaciones repetidas en el tiempo de GLM y prueba de medias por Tukey $p < 0.05$. Los métodos no afectaron la germinación, y fue de 80, 78.4 y 73.5% para RA, FT y C. La altura de las plántulas de semillas tratadas con RA fue mayor que FT y C con valores de 19.07, 16.44 y 15.62 cm. No se observó efecto sobre el diámetro del tallo y número de ramas, se presentaron valores de 1.7, 1.7 y 1.8 mm y 4.84, 4.9 y 5.0 mm para FT, C y RA, respectivamente. Los dos métodos de escarificación física empleados no mejoran la germinación de semillas de *M. oleifera* de

of *M. oleifera* of six months old, but they improve significantly the development of the seedlings obtained from these seeds in the first days of nursery stage.

KEY WORDS

Seed germinability, seed coat, pre-germination, plant nurseries, forage tree.

Introduction

The moringa plant (*Moringa oleifera*) is a native species from India that grows in tropical and subtropical regions throughout the world (Jahn, 1998; Parrota, 2000; Gopalakrishnan *et al.*, 2016). Its foliage is rich in minerals, vitamins and other photochemical essential compounds (Gopalakrishnan *et al.* 2016), in addition to a high content of antioxidant compounds (Tsfay *et al.*, 2016), with possible use for human consumption, animal feed, medicine, water purification (Rashid *et al.*, 2008), as well as for live fence, windbreaker, green fertilizer, and ethanol production (Pérez *et al.* 2010). Traditional uses have reported for their leaves, flowers, fruits, seeds and pods (Coppin, 2008). Currently one of the most promoted properties is its capacity to fight human malnutrition, due to its high content of vitamin A and C, calcium, protein, iron and potassium (Lakshmi Priya *et al.*, 2016). In animal feed for tropical livestock production, the use of the foliage is recommended, as an agroecological alternative to face the seasonality of the amount and quality of the fodders (Pérez *et al.* 2010), due to its high protein content of 21.5 to 28.7 (García *et al.*, 2006; Teixeira *et al.*, 2014) and a foliage biomass yield of up to 27 kg MS cut⁻¹ tree⁻¹ (García *et al.*, 2009). In turn, Martín *et al.* (2013) report that the fruits and seeds are used to obtain other high-quality food resources such as oil. Moringa presents a high adaptation capacity to different soil and climate conditions with temperature ranges of -1 to 48 °C, with the ideal range of 25 to 35°C (Gopalakrishnan *et al.*, 2016); in this sense, it has been shown that at higher temperatures the nutrient content of the foliage decreases (Asante *et al.*, 2014). In latitudes without relevant temperature variations, it presents flowering and foliage production throughout the year (Ramachandran, 1980). It adapts to altitudes of 0 to 1800 m (García-Roa, 2003); with rain regimes of 250 to 3,000 mm in slightly acidic or basic soils, flatlands or hills (Thurber & Fahey, 2010). It tolerates dry periods of more than six months (Mendieta-Araica

seis meses de edad, pero mejoran el crecimiento de las plántulas obtenidas de estas semillas en los primeros días de aviveramiento.

PALABRAS CLAVE

Germinabilidad de las semillas, testa, pregerminación, vivero, arbórea forrajera

Introducción

La planta moringa (*Moringa oleifera*) es una especie nativa de la India que crece en las regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo (Jahn, 1998; Parrota, 2000; Gopalakrishnan *et al.*, 2016). Su follaje es rico en minerales, vitaminas y otros compuestos fotoquímicos esenciales (Gopalakrishnan *et al.*, 2016), además de un alto contenido de compuestos antioxidantes (Tsfay *et al.*, 2016). Con posible uso para el consumo humano, alimentación animal, medicinal, purificación de agua (Rashid *et al.*, 2008), así como cerca viva, cortina rompevientos, abono verde y producción de etanol (Pérez *et al.*, 2010). Se han reportado usos tradicionales para sus hojas, flores, frutos, semillas y vainas (Coppin, 2008). Actualmente una de las propiedades más promovidas es su capacidad de combatir la malnutrición humana, por su alto contenido de vitaminas A y C, calcio, proteína, hierro y potasio (Lakshmi Priya *et al.*, 2016). En la alimentación animal de la ganadería tropical, se recomienda el uso del follaje, como una alternativa agroecológica para hacer frente a la estacionalidad de la cantidad y calidad de los forrajes (Pérez *et al.*, 2010), debido a su elevado contenido de proteína de 21.5 a 28.7 (García *et al.*, 2006; Teixeira *et al.*, 2014) y un rendimiento de biomasa del follaje de hasta 27 kg MS corte⁻¹ arbol⁻¹ (García *et al.*, 2009). Por su parte Martín *et al.* (2013) reportan que los frutos y semillas se usan para obtener otros recursos alimenticios de alta calidad como el aceite. La moringa presenta una alta capacidad de adaptación a diferentes condiciones edafoclimáticas con rangos de temperatura de -1 a 48 °C, siendo el rango ideal de 25 a 35°C (Gopalakrishnan *et al.*, 2016); en este sentido, se ha demostrado que a temperaturas más elevadas disminuye el contenido de nutrientes del follaje (Asante *et al.*, 2014). En latitudes sin variaciones importantes de temperatura presenta floración y producción de follaje estable a lo largo del año (Ramachandran, 1980). Se adapta a altitudes de 0 a 1800 m (García-Roa, 2003); con regímenes de lluvia de 250 a 3,000 mm en suelos ligeramente ácidos o alcalinos, planos o lomeríos (Thurber & Fahey, 2010). Tolerar periodos secos de más de seis meses (Mendieta-Araica *et al.*, 2013) y puede reproducirse sexual y asexualmente (Pérez

et al., 2013) and can reproduce sexually and asexually (Pérez et al., 2010). The young moringa seeds present a germination rate of up to 90 % under natural conditions (Ahmed, 2014); in these circumstances of the seed age, scarification is not necessary since it does not improve the germination indices (Parrota, 2000); these seeds lose viability six months after their harvest (Fotouo et al., 2016). The scarification treatment can be an option in seeds older than three months old, in which germination can increase up to 7.5 % (Sharma & Raina, 1982; Baskin & Baskin, 2014). Therefore it is necessary to test low-cost scarification methods and easy to apply, to disrupt the dormancy in moringa seeds. Based on this, the objective of this study was to determine the effect of two physical methods of scarification on germination of six-month-old *Moringa oleifera* seeds and on the development of seedlings in nursery stage.

Material and Methods

Localization and location of the study

The study was carried out in the nursery at Colegio de Postgraduados, Campeche Campus. Located on kilometer 17.5 of the Haltunchén-Edzná federal highway in the municipality of Champotón, Campeche. Localized in coordinates 19° 29'56.80"N - 90° 32' 34.65"W; 19° 29' 46.02"N - 90° 32' 21.89"W; 19° 29' 48.01"N - 90° 31' 56.64"W; 19° 30' 11.56"N - 90° 32' 13.55"W. The sub-humid warm climate with summer rains predominates in the region (García, 2004). The annual precipitation varies between 900 and 1200 mm. The site presents mean annual temperature of 25.5 to 26.4°C and an elevation of 21 m.

Treatments and procedure

M. oleifera seeds of six months of age were used, which were collected in commercial plantations in Yucatán, Mexico. They were sown in polystyrene forest trays with 77 wells and a capacity per well of 210 mL. The substrate consisted in a mix of local black soil and peat moss (50-50). Three treatments were applied: 1) soaking in drinking water for 24 hours, 2) fissure of seed coat with scalpel (done individually in the lab, making sure the embryo was not harmed), and 3) seed without treatment as control. Each tray was considered an experimental unit and there were 10 replicas per treatment. The seeds from the three treatments were sown on the same day after preparation according to treatment.

et al., 2010). Las semillas jóvenes de moringa presentan una tasa de germinación hasta del 90 % en condiciones naturales (Ahmed, 2014), en estas circunstancias de edad de la semilla, la escarificación no es necesaria ya que no mejora los índices de germinación (Parrota, 2000), estas semillas pierden viabilidad después de seis meses posteriores a su cosecha (Fotouo et al., 2016). El tratamiento de escarificación puede ser una opción en semillas viejas con más de tres meses de edad, en las cuales la germinación puede aumentar hasta un 7.5 % (Sharma & Raina, 1982; Baskin & Baskin, 2014). Por lo que resulta necesario probar métodos de escarificación de bajo costo y fáciles de aplicar para romper la dormancia en semillas de moringa. Con base en lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de dos métodos físicos de escarificación sobre la germinación de semillas de *Moringa oleifera* con seis meses de edad y el desarrollo de las plántulas en fase de vivero.

Material y Métodos

Localización y ubicación del estudio

El trabajo se realizó en el vivero del Colegio de Postgraduados, Campus Campeche. Ubicado en el kilómetro 17.5 de la carretera federal Haltunchén-Edzná en el municipio de Champotón, Campeche. Localizado en las coordenadas 19° 29'56.80"N - 90° 32' 34.65"W; 19° 29' 46.02"N - 90° 32' 21.89"W; 19° 29' 48.01"N - 90° 31' 56.64"W; 19° 30' 11.56"N - 90° 32' 13.55"W. En la región predomina el clima cálido subhúmedo con lluvias en verano (García, 2004). La precipitación anual varía entre 900 y 1200 mm. El sitio presenta temperatura media anual de 25.5 a 26.4°C y una elevación de 21 m.

Tratamientos y procedimiento

Se utilizaron semillas de *M. oleifera* con seis meses de edad, colectada en plantaciones comerciales de Yucatán, México. Se sembraron en charolas forestales de poliestireno con 77 cavidades y una capacidad por cavidad de 210 mL. El sustrato consistió en una mezcla de tierra negra local y peat moss (50-50). Se aplicaron tres tratamientos: 1) remojo en agua potable por 24 horas, 2) fisura de la testa con bisturí (se realizó de manera individual en laboratorio, asegurando que no se lastimará el embrión), y 3) semilla sin tratamiento como control. Cada charola constituyó una unidad experimental y se tuvieron 10 réplicas por tratamiento. Las semillas de los tres tratamientos se sembraron el mismo día previa preparación según tratamiento.

Variables evaluated

Germination

The germination percentage of all the trays sown for each treatment was measured; they were monitored daily from day 3 to 15 after sowing, and the percentage of germination was calculated with the accumulated value on day 15 with the formula: $\% G = \frac{[np \cdot 100]}{77}$ where: %G= percentage of germination, np= number of seedlings germinated and 77 corresponds to the number of wells in each tray.

Height, basal diameter and number of branches

Five trays from each treatment were randomly selected. From each tray, 10 seedlings were selected and identified on which three variables were recorded.

Height: the length was measured on each seedling selected, taking as starting point the substrate of the tray up to the tallest branch using a calibrated ruler.

Diameter of the basal stem: on all the seedlings selected, the diameter was measured at a height of 1 cm from the surface of the substrate using a digital Vernier.

Number of branches: the branches were counted in each plant selected.

Measurements were made of all the variables every 5 days, starting on day 16 after sowing and until day 40.

Data analysis

The data were analyzed through ANOVA with repeated measurements at the time of GLM with the software STATISTICA V 7.1 (Stat Soft, 2005). The Spearman correlation was performed for the variables evaluated and a Tukey means test $p < 0.05$.

Results and discussion

Germination

No differences were observed as a result of the scarification method on the germination of *M.*

Variables evaluadas

Germinación

Se midió el porcentaje de germinación de todas las charolas sembradas de cada tratamiento, se monitorearon diariamente a partir del día 3 al 15 posterior a la siembra. Con el valor acumulado al día 15, se calculó el porcentaje de germinación con la siguiente fórmula: $\% G = \frac{[np \cdot 100]}{77}$; donde: %G = porcentaje de germinación, np = número de plántulas germinadas y 77 corresponde al número de cavidades de cada charola.

Altura, diámetro basal y número de ramas

Se seleccionaron al azar cinco charolas de cada tratamiento. De cada charola se seleccionaron e identificaron 10 plántulas en las que se registraron tres variables.

Altura: de cada plántula seleccionada se midió la longitud tomando como punto de inicio el sustrato de la charola hasta la hoja de la rama más alta con auxilio de una regla graduada.

Diámetro del tallo basal: de todas las plántulas seleccionadas se midió el diámetro a una altura de 1 cm a partir de la superficie del sustrato con auxilio de un vernier digital.

Número de ramas: se contabilizaron las ramas de cada planta seleccionada.

De todas las variables se realizaron cinco mediciones cada 5 días, contados a partir del día 16 posterior a la siembra hasta el día 40.

Análisis de los datos

Los datos se analizaron mediante un ANOVA con mediciones repetidas en el tiempo del GLM con el programa STATISTICA V 7.1 (StatSoft, 2005). Se realizó correlación de Spearman para las variables evaluadas y prueba de medias por Tukey $p < 0.05$.

Resultados y discusión

Germinación

No se observaron diferencias por efecto del método de escarificación en la germinación de las semillas de *M. oleifera*,

oleifera seeds; the values observed were 80, 78.4 and 73.5 % for the treatment of soaking in drinking water, control and fissure of the seed coat. The germination values observed in this study are higher than those reported by Barraza (2017) of 54, 37 and 28 % of seed germination in moringa seeds with 24, 48 and 72 hours of soaking. They are similar to those reported by Toral et al. (2013) in eight origins of moringa seeds for which a range of germination was reported of 49 to 84 % under nursery conditions without pre-germination treatment of the seeds. However, the values found in this study with the treatment of seed coat fissure are lower than those reported by González & Navarro (2001) with a similar treatment in *Albizia lebbbeck* where they obtained a germination of 96.8 % in moringa; these differences are because in the *M. oleifera* seeds there is physiological dormancy, while in *A. lebbbeck* there is physical dormancy, so it responds better to these type of scarification treatments (Baskin & Baskin, 2014). On the other hand, the effect of the treatment in water immersion is more efficient in legume seeds because the presence of suberin in the seeds allows increasing the water imbibition and the exchange of gases necessary for the renovation of embryo growth and germination (Sanabria et al., 2004).

Height

The greatest height of the *M. oleifera* seedlings was observed with the treatment of soaking in drinking water with an average of 19.07 cm ($p < 0.05$). The height was different in the five assessments carried out ($p < 0.05$), it was greatest after 25 days with an average of 26.04 cm (Figure 1). The interaction scarification treatment with age of the seedling presented an effect ($p < 0.05$) and the highest values were found with the treatment of seed coat fissure after 25 days, soaking in water at 25 and 20 days, and control at 20 days with values of 26.2, 26.2, 24.2 and 22.7 cm respectively (Table 1). The values of seedling height found in this study are higher than those observed by Valdez-Rodríguez et al. (2014), who report values at 25 days post-germination of 7.5 to 18 cm with different substrates. The trend of higher values with the treatment of water imbibition was reported before by Ramírez et al. (2012) in *Leucaena leucocephala* seedlings. This behavior can be because the availability of water determines the imbibition, which leads to the activation of metabolic processes, increases the metabolism of nutrients, accelerating the rehydration and

los valores observados fueron de 80, 78.4 y 73.5 % para el tratamiento de remojo en agua potable, control y fisura de la testa. Los valores de germinación observados en el presente estudio son superiores a los reportados por Barraza, (2017) de 54, 37 y 28 % de germinación en semillas de moringa con 24, 48 y 72 horas de remojo. Son similares a los reportados por Toral et al. (2013) en ocho procedencias de semillas de moringa para las que reportaron un rango de germinación de 49 a 84 % en condiciones de vivero sin tratamiento pregerminativo de las semillas. Sin embargo, los valores encontrados en el presente estudio con el tratamiento de fisura de la testa, son inferiores a los reportados por González & Navarro (2001) con un tratamiento similar en semillas de *Albizia lebbbeck* en donde obtuvieron una germinación de 96.8 % moringa, estas diferencias se deben a que la semilla de *M. oleifera* presenta dormancia fisiológica, mientras que *A. lebbbeck* presenta dormancia física, por lo que responde mejor a este tipo de tratamientos de escarificación (Baskin & Baskin, 2014). Por otro lado, el efecto del tratamiento en inmersión en agua resulta más eficiente en semillas de leguminosas debido a que la presencia de suberina en las semillas permite incrementar la imbibición de agua y el intercambio de gases necesarios para la renovación del crecimiento embrionario y la germinación (Sanabria et al., 2004).

Altura

La mayor altura de las plántulas de *M. oleifera* se observó con el tratamiento de remojo en agua potable con un promedio de 19.07 cm ($p < 0.05$). La altura fue diferente en las cinco evaluaciones realizadas ($p < 0.05$), fue mayor a los 25 días con un promedio de 26.04 cm (Figura 1). La interacción tratamiento de escarificación con la edad de la plántula presentó efecto ($p < 0.05$) y los valores más elevados se encontraron con el tratamiento de fisura de la testa a los 25 días, el remojo en agua a los 25 y 20 días y control a los 20 días con valores de 26.2, 26.2, 24.2 y 22.7 cm respectivamente (Tabla 1). Los valores de altura de plántulas registrados en el presente estudio son superiores a los observados por Valdés-Rodríguez et al. (2014), quienes reportan valores a los 25 días post germinación de 7.5 a 18 cm con diferentes sustratos. La tendencia de valores más elevados con el tratamiento de imbibición en agua coincide con lo reportado por Ramírez et al. (2012) en plántulas de *Leucaena leucocephala*. Este comportamiento puede deberse a que la disponibilidad de agua determina la imbibición, que conduce a la activación de los procesos metabólicos, incrementa el metabolismo de los nutrientes, acelerando la rehidratación y activando los mecanismos de reparación de membranas y biomoléculas

activating the mechanisms of membrane and biomolecule repair that allow cellular elongation, germination and the development of structural tissue (Doria, 2010; Dubreucq *et al.* 2000). Similar to the effect described by Jones and Sharitz (1989), who suggest that the seeds that germinate first have an advantage from environmental factors that are temporarily present at the time of germination, such as luminosity, and availability of water and nutrients.

que posibilitan la elongación celular, germinación y el desarrollo de tejido estructural (Doria, 2010; Dubreucq *et al.*, 2000). Así como al efecto descrito por Jones & Sharitz (1989), quienes plantean que las semillas que germinan primero toman ventaja de factores ambientales presentes de forma temporal al momento de la germinación como luminosidad, disponibilidad de agua y nutrientes.

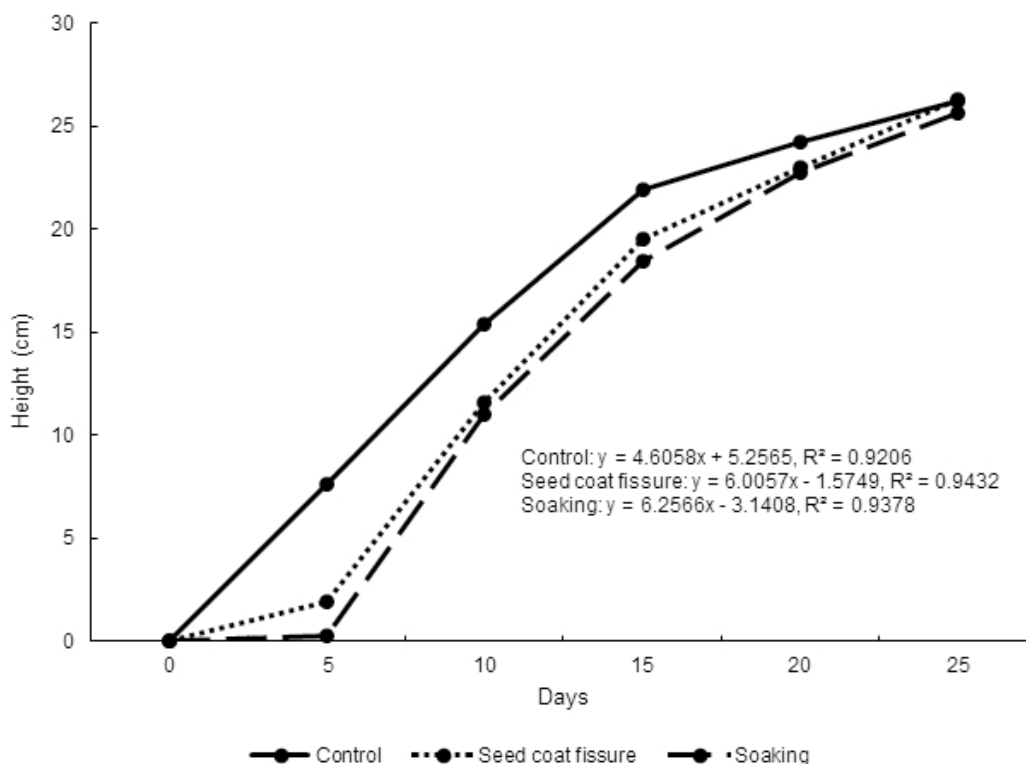


Figure 1. Height of *M. oleifera* seeds in early nursery stages with three scarification methods.

Figura 1. Altura de plántulas de *M. oleifera* en fase temprana de aviveramiento con tres métodos de escarificación.

Basal diameter

The scarification method of the *M. oleifera* seeds did not influence the development of the basal diameter, and averages of 1.7, 1.7 and 1.8 mm were observed for control, seed coat fissure and soaking in drinking water. The age of the seedling had an effect on the basal diameter of the seedlings ($p < 0.05$), with the lowest value found after 10 days with a value of 1.4 mm, and similar values recorded at 15, 20 and 25 days (Table 1). A difference ($p < 0.05$) was found as

Diámetro basal

El método de escarificación de las semillas de *M. oleifera* no influyó sobre el desarrollo del diámetro basal, y se observaron promedios de 1.7, 1.7 y 1.8 mm para control, fisurado de testa y remojo en agua potable. La edad de la plántula mostró efecto sobre el diámetro basal de las plántulas ($p < 0.05$) el valor más bajo se registró a los 10 días con un valor de 1.4 mm, los valores registrados a los 15, 20 y 25 días fueron similares (Tabla 1). Por efecto de la interacción tratamiento con edad de la plántula se observó

a result of the interaction of treatment with age of the seedling, with the lowest values observed with control and seed coat fissure after 10 days with 1.2 and 1.3 mm, while the treatment of soaking in drinking water and all the treatments starting at 15 days of seedling age were similar. The values of stem diameter of moringa seedlings at 25 days of age observed in this study are lower than the ones reported by Valdez-Rodríguez *et al.* (2014), who found values of 2.7 to 4.5 mm. This study did not find that the scarification method had an effect on the development of the basal diameter, which differs from what was reported by Ramírez *et al.* (2012) who found an effect from soaking in drinking water on the stem diameter in *Ziziphus mauritiana* seedlings.

Number of branches

No differences were observed between treatments with regards to the number of branches with values of 4.84, 4.9 and 5.0 for control, seed coat fissure and soaking in drinking water. The age of the seedling showed effect ($p < 0.05$) on the number of branches, which was the highest after 25 days with 6.06 branches (Table 1). As a result of the effect of the interaction scarification treatment and

diferencia ($p < 0.05$), los menores valores se observaron con control y fisurado de la testa a los 10 días con 1.2 y 1.3 mm, mientras que el tratamiento remojo en agua potable y todos los tratamientos a partir de los 15 días de edad de las plántulas fueron similares. Los valores de diámetro de tallos de las plántulas de moringa a los 25 días de edad observados en el presente estudio son menores a los reportados por Valdés-Rodríguez *et al.* (2014) quienes encontraron valores de 2.7 a 4.5 mm. En el presente estudio no se observó efecto del método de escarificación sobre el desarrollo del diámetro basal, lo que difiere con lo reportado por Ramírez *et al.* (2012) quienes encontraron efecto del remojo en agua potable sobre el diámetro de tallo en plántulas de *Ziziphus mauritiana*.

Número de ramas

No se observaron diferencias entre tratamientos con respecto al número de ramas con valores de 4.84, 4.9 y 5.0 para control, fisurado de testa y remojo en agua potable. La edad de la plántula mostró efecto ($p < 0.05$) sobre el número de ramas fue mayor a los 25 días con 6.06 ramas (Tabla 1). Por efecto de la interacción tratamiento de escarificación y edad de la plántula los valores más altos

Table 1.
Effect of two scarification methods of *M. oleifera* seeds on the height, basal diameter and generation of branches in the nursery stage.

Tabla 1.
Efecto de dos métodos de escarificación de semillas de *M. oleifera* sobre la altura, diámetro basal y generación de ramas en etapa de vivero.

Treatment	Age (days)				
	5	10	15	20	25
Basal diameter of the stem (mm)					
Control	N.R.	1.2 ^b ±0.09	1.8 ^a ±0.07	1.9 ^a ±0.07	1.9 ^a ±0.07
Soaking in water	N.R.	1.6 ^a ±0.08	1.9 ^a ±0.04	1.9 ^a ±0.06	1.9 ^a ±0.05
Seed coat fissure	N.R.	1.3 ^{ab} ±0.11	1.8 ^a ±0.08	1.8 ^a ±0.06	1.9 ^a ±0.03
Average	N.R.	0.14 ^b	0.18 ^a	0.19 ^a	0.19 ^a
Number of branches					
Control	N.R.	3.1 ^a ±0.15	4.7 ^a ±0.15	5.5 ^a ±0.13	5.9 ^a ±0.17
Soaking in water	N.R.	3.1 ^a ±0.11	5.0 ^a ±0.09	5.6 ^a ±0.11	6.1 ^a ±0.10
Seed coat fissure	N.R.	3.0 ^a ±0.11	4.8 ^a ±0.16	5.6 ^a ±0.15	6.2 ^a ±0.18
Average	N.R.	3.1 ^d	4.8 ^c	5.6 ^b	6.1 ^a

N.R. Not recorded. Different letters in the same line and column indicate significant statistical difference, Tukey $p < 0.05$.

N.R. No registrado. Literales diferentes en la misma fila y columna indican diferencia estadística significativa, Tukey $p < 0.05$.

seedling age, the highest values were observed in the three treatments with 20 and 25 days of age. There was also no record of an effect from the type of scarification on the number of branches in the first days of the seedlings. The values observed in this study are lower than those reported by Valdez-Rodríguez *et al.* (2014) who found 5.2 to 7.3 branches in moringa seedlings at 25 days of age in different organic substrates. Likewise, the trend observed in this study differs from what was reported by Ramírez *et al.* (2012), who reported an effect from the pre-germinative treatment with soaking in drinking water, sanding down of the seed and gibberellic acid on the variables number of knots and number of branches in seedlings of the legumes *Leucaena leucocephala* and *Pithecellobium dulce*, as well as the fruit tree *Ziziphus mauritiana*.

Correlations between variables

A correlation was observed between the height of the seedling and the number of branches ($r_s = 0.50$, $p = 0.0006$). The basal diameter was not correlated with the number of branches or with the height of the seedling. This suggests there is a need for fertilization programs in the nursery stage to replace the nutritional requirements of the species and obtain young vigorous seedlings that are apt to be transplanted, given that it has been argued that this process tends to produce physiological stress and that it is higher in older seedlings (Flores *et al.* 2009). In this sense, Gómez *et al.* (1986) suggest that the variations in stem diameter of tree and shrub species justifies between 60 and 80 % of the variations in the weight of the branches, which defines the photosynthetic rate and the survival of seedlings in the field.

Conclusions

The physical methods of scarification used in this study did not improve significantly the germination rate of six-month-old *M. oleifera* seeds. They also didn't improve the stem diameter or the number of branches of the seedlings emerged from the scarified seeds. Therefore, it is possible to assume that at this age the seeds show a high potential of natural germination, and that they can be used under nursery conditions. However, it is necessary to evaluate the potential of this type of seeds to be used in sowing systems directly in the field. Finally, for seedlings from seeds with long periods of storage, it is advisable to establish fertilization programs to

se observaron en los tres tratamientos con edad de 20 y 25 días de edad. Tampoco se observó efecto del tipo de escarificación sobre el número de ramas en los primeros días de las plántulas. Los valores observados en el presente estudio son menores a los reportados por Valdés-Rodríguez *et al.* (2014) quienes encontraron valores de 5.2 a 7.3 ramas en plántulas de moringa de 25 días de edad en diferentes sustratos orgánicos. Así mismo, la tendencia observada en el presente estudio difiere con lo reportado por Ramírez *et al.* (2012), quienes observaron efecto del tratamiento pregerminativo con remojo en agua potable, lijado de semilla y ácido giberélico en las variables número de nudos y número de ramas en plántulas de las leguminosas *Leucaena leucocephala* y *Pithecellobium dulce*, así como del frutal *Ziziphus mauritiana*.

Correlaciones entre variables

Se observó correlación entre la altura de la plántula y el número de ramas ($r_s = 0.50$, $p = 0.0006$). El diámetro basal no se correlacionó con el número de ramas ni con la altura de la plántula. Lo que sugiere la necesidad de programas de fertilización en etapa de vivero para suplir los requerimientos nutricionales de la especie y obtener plántulas jóvenes vigorosas y aptas para el trasplante, dado que se ha argumentado que este proceso suele producir estrés fisiológico y que es mayor en plántulas con edades mayores (Flores *et al.*, 2009). En este sentido, Gómez *et al.* (1986), sugieren que las variaciones del diámetro de tallo en arbóreas y arbustivas justifica entre el 60 y 80 % de las variaciones del peso de las ramas, lo que determina la tasa fotosintética y la sobrevivencia de las plántulas en campo.

Conclusiones

Los métodos físicos de escarificación empleados en este estudio no mejoraron significativamente la tasa de germinación de las semillas de *M. oleifera* con seis meses de edad. Tampoco mejoraron el diámetro de tallo ni el número de ramas de las plántulas emergidas de las semillas escarificadas. Por lo tanto, es posible asumir que a esa edad las semillas muestran alto potencial de germinación natural, pudiendo ser empleadas en condiciones de vivero. Sin embargo, es necesario evaluar el potencial de este tipo de semillas para emplearse en sistemas de siembra directa en campo. Finalmente, para plántulas provenientes de semillas con largos periodos de almacenamiento, es recomendable establecer programas de fertilización para

obtain young seedlings with an adequate development of the stem and buds to transplant in the field.

obtener plántulas jóvenes con un desarrollo adecuado de tallo y brotes para trasplantarse en campo.

References

- Ahmed, L. T., Warrag, E. I. and Abdelgadir, A. Y. (2014). Effect of shade on seed germination on early seedling growth of *Moringa oleifera* Lam. *Journal of Forest Products and Industries* 3(1): 20-26. <http://researchpub.org/journal/jfpi/number/vol3-no1/vol3-no1-3.pdf>
- Asante, W. J., Nasare, I. L., Tom-Dery, D., Ochire-Boadu, K. and Kentil, K. B. (2014). Nutrient composition of *Moringa oleifera* leaves from two agro ecological zones in Ghana. *African Journal Plant Science* 8: 65-71. <https://doi.org/10.5897/AJPS2012.0727>
- Barraza, F. A. (2017). Germinación de semillas de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) en diferentes tiempos de imbibición en agua. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 20(1): 71-77. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-42262017000100009&script=sci_abstract&tlng=es
- Baskin, C. C. & Baskin, J. M. (2014). A geographical perspective on germination ecology: tropical and subtropical zones. In: Baskin, C.C. and Baskin, J.M. (Editors). *Seed, ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. 2th Edition. Academic Press of ELSEVIER. ISBN: 978-0-12-416677-6
- Gómez, C. A. G., Tovar, A. J. J., Medina, B. M. and Martínez, T. A. (1986). Relaciones entre diámetro de tallo y peso de las ramas en cuatro especies leñosas mediterráneas. *Archivos de Zootecnia* 35: 149-154. https://www.uco.es/organiza/servicios/publica/az/php/az.php?idioma_global=0&revista=90&codigo=1108
- Coppin, J. (2008). A study of the nutritional and medicinal values of *Moringa oleifera* leaves from Sub-Saharan Africa: Ghana, Rewanda, Senegal and Zambia, MSc thesis, Gracuates School-New Brunswick Rutgers, The State University ok New Jersey. 124 p. http://biblioteca.universia.net/html_bura/ficha/params/titulo/study-of-the-nutritional-and-medicinal-values-of-moringa-oleifera/id/49974028.html
- Donohue, K., Rubio, C. R., Burghardt, L., Kovach, K. and Willis, C. G. (2010). Germination, postgermination, adaptation and species ecological ranges. *Annual Review of Ecology, evolution and Systematics*, 41: 293-319. <https://doi.org/doi:10.7282/T3MG7PVN>
- Doria, J. (2010). Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos tropicales* 31: 74-85. <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v31n1/ctr11110.pdf>
- Dubreucq, B., Berger, N., Vincent, E., Boisson, M., Pelletier G., Caboche, M. and Lepiniec, L. (2000). The Arabidopsis AtEPR1 extensin-like gene is specifically expressed in endosperm during seed germination. *Plant Journal* 23(5): 643-652. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10972890>
- Flores, E., Moratinos, P., Ramírez, M. and García, D. E. (2009). Evaluación de la emergencia y las características morfológicas iniciales de *Tamarindus indica* L. con fines agroforestales. *Pastos y forrajes* 32(2): 1-11. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942009000200008
- Fotouo, M. H., Toit, E. S. and Robbertse, P. J. (2015). Germination ad ultrastructural studies of seed produced by a fast-growing, drought-resistant tree: implications for its domestication and seed storage. *AoB PLANTS* 7: 1-12. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plv016>
- García, D. E., Medina, M. G., Cova, L. J., Clavero, T., Torres, A., Perdomo, D. and Santos, O. (2009). Evaluación integral de recursos forrajeros para ruminantes en el estado Trujillo, Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)* 4: 555-582.
- García, D. E., Medina, M. G., Domínguez, C., Baldizán, A., Humbría, J. and Cova, L. (2006). Evaluación química de especies no leguminosas con potencial forrajero en el estado Trujillo, Venezuela. *Zootecnia Tropical* 24(4): 401-415.
- García, E. (2004). Modificaciones al sistema de clasificación de Köppen para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México. Serie libros No. 6. México, DF. 98 p. https://www.academia.edu/12911044/Modificaciones_al_sistema_de_clasificaci%C3%B3n_clim%C3%A1tica_de_K%C3%B6ppen_para_adaptarlo_a_las_condiciones_de_la_Rep%C3%BAblica_Mexicana_2004_-_Enriqueta_Garc%C3%ADa

- García-Roa, M. (2003). Producción de semillas forestales de especies forrajeras enfatizados en sistemas silvopastoriles. Instituto Nacional Forestal. Managua, Nicaragua. https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/41739070/Produccion_Semillas_forestales_Especies_forrajeras_pdf?response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DPRODUCCION_DE_SEMILLAS_FORESTALES_DE_ESP.pdf&X-Amz-Algorithm=AWS4-HMAC-SHA256&X-Amz-Credential=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A%2F20190703%2Fus-east-1%2Fs3%2Faws4-request&X-Amz-Date=20190703T143336Z&X-Amz-Expires=3600&X-Amz-SignedHeaders=host&X-Amz-Signature=66499f49d48c8fa230e5b5c0aed50a58318772a424b698c7ffa9212efd1557ad
- González, Y. & Navarro, M. (2001). Efecto de tratamientos pregerminativos en la ruptura de la dormancia en las semillas de *Albizia lebbbeck*. *Pastos y Forrajes*, 24(3): 225-228. <https://payfo.ihatuey.cu/index.php?journal=pasto&page=article&op=view&path%5B%5D=900>
- Gopalakrishnan, L., Doriya, K. and Kumar, S. D. (2016). *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. *Food Science and Human Wellness*, 5(2): 49-56. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2016.04.001>
- Jahn, S. A. A. (1998). Using *Moringa oleifera* seeds as coagulant in developing countries. *Journal American Water Works Association*, 80(6): 43-50. <https://doi.org/10.1002/j.1551-8833.1988.tb03052.x>
- Jones, R. H. & Sharitz, R. R. (1989). Potential advantages and disadvantages of germinating early for trees in flood plain forests. *Oecologia*, 81(4): 443-449. <https://doi.org/10.1007/BF00378950>
- LakshmiPriya, G., Doriya, K., Santos, K. D. (2016). *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. *Food Science and Human Wellness*, 5(2): 49-56. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2016.04.001>
- Martín, C., Martín, G., García, A., Fernández, T., Hernández, E. and Puls, J. (2013). Potenciales aplicaciones de *Moringa oleifera*. Una revisión crítica. *Pastos y forrajes*, 36(2):137-149. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942013000200001
- Mendieta-Araica, B., Spornly, E., Reyes-Sánchez, N., Salmerón-Miranda, F. and Halling, M. (2013). Biomass production and chemical composition of *Moringa oleifera* under different planting densities and levels of nitrogen fertilization. *Agroforestry Systems*, 87(1): 81-92. <https://doi.org/10.1007/s10457-012-9525-5>
- Parrota, J. A. (2000). *Moringa oleifera* Lam. En: Francis JK, Lowe CA, Trabanino S (Ed). Bioecología de Arbóreas Nativas y Exóticas de Puerto Rico y las Indias Occidentales. Gen. Tech. Rep. IITF-15. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, Servicio Forestal, Instituto Internacional de Dasonomía Tropical. Río Piedras, Puerto Rico. pp: 366-370. https://data.fs.usda.gov/research/pubs/iitf/Bioecologia_gtr15.pdf
- Pérez, A., Sánchez, T., Armengol, N. and Reyes, F. (2010). Características y potencialidades de *Moringa oleifera* Lamark. Una alternativa para la alimentación animal. *Pastos y Forrajes*, 36(4):1-16. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942010000400001
- Ramachandran, C., Peter, K. V. and Gopalakrishnan, P. K. (1980). Drumstick (*Moringa oleifera*): a multipurpose Indian vegetable. *Economic Botany* 34(3): 276-283. <https://doi.org/10.1007/BF02858648>
- Ramírez, M., Suárez, H., Regino, M., Caraballo, B. and García, D. (2012). Respuesta a tratamientos pregerminativos y caracterización morfológica de plántulas de *Leucaena leucocephala*, *Pithecellobium dulce* y *Ziziphus mauritiana*. *Pastos y Forrajes* 35(1): 29-42. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942012000100003
- Rashid, U., Anwar, F., Moser, B. R. and Knothe, G. (2008). *Moringa oleifera* Oil: A Possible Source of Biodiesel. *Bioresource Technology* 99(17): 8175-8179. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.03.066>
- Sanabria, D., Silva-Acuña, R., Oliveros, M. and Manrique, U. (2004). Germinación de semillas de las leguminosas arbustivas forrajeras *Cratylia argentea* y *Cassia moschata* sometidas a inmersión en ácido sulfúrico. *Bioagro*, 16(3): 10-25. http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612004000300010
- Sharma, G.K., Raina, V. 1982. Propagation techniques of *Moringa oleifera* Lam. En: Khosla, P.K., ed. Improvement of forest biomass: Proceedings of a Symposium, 20-21 November 1980, Solan, India: *Indian Society of Tree Scientists*: p. 175-181.
- StatSoft, Inc. STATISTICA (data analysis software system) (2005) version 7.1. <http://www.statsoft.com/Products/STATISTICA-Features>
- Teixeira, E.M., Carvalho, M.R., Neves, V.A., Silva, M.A. and Arantes-Pereira, L. 2014. Chemical characteristics and fractionation of proteins from *Moringa oleifera* Lam. Leaves. *Food Chemistry*, 15(147): 51-54. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.135>

- Tesfay, S. Z., Modi, A. T. and Mohammed, F. (2016). The effect of temperature in Moringa seed phytochemical compounds and carbohydrate mobilization. *South African Journal of Botany*, 102(January):190-196. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.07.003>
- Thurber, M. D. & Fahey, J. W. (2010). Adoption of *Moringa oleifera* to combat under nutrition viewed through the lens of the diffusion of innovations theory. *Ecology Food Science Nutrition*, 48(3): 210-225. [HTTPS://doi.org/10.1080/03670240902794598](https://doi.org/10.1080/03670240902794598)
- Toral, O., Cerezo, Y., Reino, J. and Santana, H. (2013). Caracterización morfológica de ocho procedencias de *Moringa oleifera* (Lam.) en condiciones de vivero. *Pastos y Forrajes*, 36(4): 409-416. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942013000400002
- Valdés-Rodríguez, O. A., Muños-Gamboa, C., Pérez-Vázquez, A. and Martínez-Pacheco, E. (2014). Análisis y ajuste de curvas de crecimiento de *Moringa oleifera* Lam. en diferentes sustratos. *Revista Biológico Agropecuaria Tuxpan*, 2(2): 66-70. http://www.colpos.mx/wb_pdf/Veracruz/2014/20_14_19.pdf