

TRABAJO CIENTÍFICO

Influencia de las condiciones de incubación sobre la germinación de semillas de diferentes individuos de *Pterogyne nitens*

Influence of incubation conditions on germination of seeds of different individuals of Pterogyne nitens Tul ex Benth

Espindola, Y.¹; L. Romero²; R. Ruiz Diaz² y C. Luna^{1,3}

Recibido en agosto de 2017; aceptado en abril de 2018

RESUMEN

Existen escasos estudios relacionados con la germinación de semillas de viraró que permitan mejorar las técnicas de manejo adecuado de este recurso de importancia maderera, no maderera y ornamental. El objetivo del presente fue determinar la influencia de la temperatura de incubación sobre la germinación de *Pterogyne nitens*. Las semillas para este estudio se obtuvieron de 12 ejemplares; los ensayos se realizaron en cámaras de germinación con temperaturas de incubación de: T1) $8\pm 2^\circ\text{C}$ con condiciones de luz de 17 Lux; T2) $27\pm 2^\circ\text{C}$ y 3.728 Lux, ambos con un fotoperiodo de 14 hs.; T3) temperatura ambiente, registrada diariamente en condiciones de invernadero en promedio $29\pm 2,5^\circ\text{C}$; y T4) T1 por 21 días (incubación en frío $8\pm 2^\circ\text{C}$) y luego T2 ($27\pm 2^\circ\text{C}$) por 21 días. Luego de 21 días de incubación se evaluó energía germinativa, periodo de energía, velocidad de germinación e índice de velocidad de germinación. Los resultados permitieron obtener información acerca el efecto de la temperatura de incubación en la germinación de semillas de *P. nitens*; aunque no se identificó un patrón claro de desarrollo con diferentes condiciones de incubación, se determinó que *P. nitens* necesita temperaturas promedio de 29°C para desencadenar el proceso. Además, con la incubación en frío se logró un efecto favorecedor para algunos indicadores de vigor. Lo generado en este trabajo será útil para la producción de *P. nitens* en vivero; destacando la importancia de complementar los ensayos de germinación con pruebas de viabilidad para obtener más información acerca de la calidad de semillas.

Palabras clave: semillas, viraró, tipa colorada, viabilidad.

ABSTRACT

There exist few studies related to viraró seed germination tending to improve the techniques for the proper management of this resource of timber, non-timber and ornamental importance. The aim of this study was to determine the influence of the incubation temperature on the germination of *Pterogyne nitens*. The seeds used in this experiment were obtained from 12 specimens; the tests were performed in germination chambers at T1) $8\pm 2^\circ\text{C}$ under lighting conditions of 17 Lux; T2) $27\pm 2^\circ\text{C}$ and 3.728 Lux, both with a photoperiod of 14 hours; T3) room temperature, $29\pm 2.5^\circ\text{C}$ on average registered daily at greenhouse conditions; and T4) T1 for 21 days (cold incubation, $8\pm 2^\circ\text{C}$) and then T2 ($27\pm 2^\circ\text{C}$) for 21 days. After 21 days of incubation both germinative energy, energy period, germination speed and germination speed index were evaluated. The results gave information about the effect of the incubation temperature on *P. nitens* seeds germination. Although a clear developmental pattern for each incubation condition could not be identified, it was determined that *P. nitens* needs temperatures around 29°C on average to trigger the process. Additionally, a favorable effect for some vigor indicators was achieved when cold incubation when was tested. The information generated in this study will be useful for the nursery production of *P. nitens*; it also remarks the fact that germination tests should be complemented with those of viability tests in order to obtain more information on seed quality.

Key words: seeds, viraró, tipa colorada, viability.

¹ Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Nordeste. Sgto. Cabral 2131. (W3402BKG) Corrientes. Argentina.

² Estación Experimental Agropecuaria Bella Vista. Ruta 27 - Km 38,3 (3432) Bella Vista Corrientes.

³ Instituto de Botánica del Nordeste - CONICET. CC N° 209. Corrientes, Argentina. E-mail: cluna@agr.unne.edu.ar

1. INTRODUCCIÓN

Pterogyne nitens (tipa colorada, viraró) perteneciente a la familia Fabaceae, es nativa de bosques chaqueños de Argentina, en las provincias de Salta, Jujuy, Chaco, Formosa, Corrientes hasta Misiones. Habita en la selva pedemontana de 400-800 msnm y en los bosques ribereños y madrejones del bosque chaqueño (Legname, 1982). Se encuentra en un estado de conservación “casi amenazado” según UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza), (APN-SIB, 2010). En Brasil es considerada en riesgo de extinción y se recomienda su conservación genética (Nassif y Perez, 2000; Nascimento *et al.*, 2006).

Esta especie además de ser utilizada como ornamental por la belleza de sus inflorescencias exuberantes, produce madera apta para la fabricación de muebles de estilo (Dimitri *et al.*, 2000), herramientas como arados, bateas, mangos de hachas y utensilios de cocina (Moraes *et al.*, 2006). Como producto forestal no maderero se incluye como fuente de extracción de tanino, tintas y alimentos. Como medicinal, se destaca su empleo como expectorante, antigripal y para combatir la presencia de parásitos, el dolor de hígado y estómago (Regasini *et al.*, 2008).

En plantaciones, *P. nitens* prefiere suelos fértiles, con buen drenaje y textura arcillosa; y soporta una estación seca de hasta seis meses (Carvalho, 1994). Es apta para ser utilizada en planes de forestación, reforestación o enriquecimiento de los bosques naturales del noroeste argentino, que han sufrido intensas explotaciones (Del Castillo *et al.*, 1997; Dimitri *et al.*, 2000). Según Carvalho *et al.* (1980) el éxito de la reforestación depende principalmente de la calidad de las plántulas; por ello cuando la especie se propaga a partir de semillas como el caso de *P. nitens*, es necesario que la emergencia sea rápida y pareja, para lograr homogeneidad en el material producido (Tapia *et al.*, 2014).

La calidad de semilla está definida por cuatro propiedades que restringen la capacidad de dar origen a una planta de alta productividad y están vinculadas a atributos físicos, fisiológicos, genéticos y sanitarios- (Popinigis, 1972). Los caracteres fisiológicos, que en este análisis son los de mayor importancia, están relacionados por la capacidad de las semillas para germinar y crecer con buen vigor. La germinación en laboratorio se define como la emergencia y desarrollo de una plántula hasta una etapa donde el aspecto de sus estructuras esenciales indica la posibilidad de que se desarrolle una planta normal bajo condiciones favorables en el campo (ISTA, 2014).

Los factores ambientales, como la luz y temperatura, son reguladores primarios que afectan el proceso de germinación. La temperatura determina directamente la velocidad de las reacciones bioquímicas que participan en el proceso, afecta la tasa y la capacidad de germinación, y cuando la temperatura es desfavorable promueve la latencia primaria o secundaria (Bewley y Black, 1994). Por lo tanto, estudios de germinación de las semillas y establecimiento de las plántulas de especies forestales son fundamentales para mejorar las técnicas que permiten el manejo adecuado, ya sea en un ambiente natural o en bosques implantados (Nassif y De Andrade, 1997; Jordano *et al.*, 2002).

El objetivo del presente fue determinar el efecto de la temperatura de incubación en la germinación de semillas de *P. nitens*.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron frutos maduros de 12 árboles adultos de *P. nitens* seleccionados al azar del arbolado urbano de la ciudad de Bella Vista, ubicada al oeste de la provincia de Corrientes, Argentina (sobre las costas del Río Paraná y a 143 kilómetros de la ciudad Capital). Los individuos seleccionados cuentan con una altura de 15 m en promedio. Los frutos se conservaron a temperatura de heladera ($8\pm 2^{\circ}\text{C}$) en bolsas de papel previamente identificadas. Las semillas se









extrajeron manualmente de los frutos antes de los ensayos y se dejaron extendidas en bandejas durante 10 días en el laboratorio, para garantizar su secado total (contenido de humedad aproximado 10-12% según lo propuesto por Morandini *et al.*, 2013). Los ensayos de germinación se realizaron en el Laboratorio de Biotecnología Aplicada y Genómica Funcional de la Facultad de Ciencias Agrarias - Universidad Nacional del Nordeste-IBONE-CONICET.

2.1 Determinación de viabilidad de las semillas

Se realizó la prueba topográfica por tetrazolio para evaluar viabilidad del lote de semillas. Se trabajó con 4 repeticiones de 25 semillas que se acondicionaron realizando una imbibición durante 48 h. Para realizar la tinción, se utilizaron frascos de vidrio de 100 ml con tapa hermética donde se colocaron las semillas totalmente sumergidas en la solución de tetrazolio. Se incubaron en estufa a 28 °C y en oscuridad durante 24 h. Una vez concluida la tinción, las semillas se enjuagaron con abundante agua corriente y se realizaron las observaciones sobre cada semilla individualmente. Los resultados se expresaron en porcentaje (%) de semillas viables (semillas mayormente teñidas) y semillas no viables (embrión sin tinción), utilizando para determinar el área de tinción, el editor de imágenes *ImageJ* (Rasband, 2016).

Para la descripción de las clases de viabilidad en el test de tetrazolio se utilizó el patrón propuesto por Fogaça *et al.* (2006) (Tabla 1).

Tabla 1. Patrón de clasificación de viabilidad de las semillas mediante el test de tetrazolio (tomado de Fogaça *et al.* 2006)

Categoría	Descripción	Patrón de clasificación de viabilidad
Clase 1	Viable: semilla con coloración rosa uniforme y todos los tejidos con aspecto normal y firme.	
Clase 2	Viable: semillas que presentan menos de 50% de los cotiledones con coloración rojo intenso, típico de tejido en deterioro.	
Clase 3	Viable: extremidad de la radícula con coloración blanco lechoso sin llegar al cilindro central, además de presentar manchas de color blanco lechoso y dispersas de color rojo intenso.	
Clase 4	Viable: semillas que presentan menos de 50% de la región cotiledonar con coloración blanco lechoso, caracterizando tejido muerto.	
Clase 5	No viable: eje embrionario y más del 50% de la región cotiledonar que presente coloración roja intensa típica de tejidos en deterioro.	
Clase 6	Inviable: semilla totalmente con coloración rojo intenso, indicando grave proceso de deterioro.	
Clase 7	No viable: eje embrionario con coloración blanco lechoso, que presente el cilindro central con coloración rojo intenso. Región cotiledonar que presente más del 50% blanco lechoso, con manchas rojas intensas dispersas.	
Clase 8	No viable: semilla totalmente con coloración blanco lechoso que presente tejidos flácidos.	

La precisión de la estimación se determinó mediante una matriz de confusión que es una forma de verificar la exactitud del método utilizado; la coincidencia hace referencia al porcentaje de semillas que fue correctamente asignada a las diferentes categorías (semillas viables y no viables).

2.2 Tratamiento pre-germinativo y condiciones de incubación

Las semillas fueron sometidas al protocolo propuesto por Tapia *et al.* (2014) fundamentado en una escarificación física (cubriendo la semilla con agua inicialmente a 80 °C, hasta alcanzar temperatura ambiente, completando luego 24 h en inmersión); ya que como la mayoría de las semillas de las especies de Fabaceae, ésta posee testa dura y presenta dormición física (Baskin y Baskin, 2001; Colombo-Speroni y de Viana, 2002). Las semillas fueron colocadas en placas de Petri sobre dos láminas de papel de filtro humedecido con agua destilada (Nascimento *et al.*, 2006).

Los germinadores fueron cubiertos con papel *film* para reducir la pérdida de humedad e incubados a diferentes temperaturas: **T1:** 8±2 °C con condiciones de luz de 17 Lux (heladera), **T2:** 27±2 °C y 3.728 Lux (cámara climatizada), ambos con un fotoperiodo de 14 h.; **T3:** temperatura ambiente registrada diariamente en condiciones de invernadero; en promedio 29±2,5 °C) y **T4:** T1 por 21 días (estratificación en frío-8±2 °C) y luego T2 (27±2 °C) por 21 días. En cada ensayo se utilizaron cuatro réplicas de 25 semillas cada una.

2.3 Parámetros evaluados

Se consideró como germinada a la semilla con emergencia de una radícula que superara los 2 mm de largo (Soto Gonzales y Valiengo Valeri, 2011; Perissé *et al.*, 2011; Ruiz y Terenti, 2012). El recuento de la germinación se realizó cada 3 días, hasta haber completado los 21 días; humedeciendo el sustrato (papel absorbente) cuando fue necesario. Las variables evaluadas, fueron porcentaje de germinación y número de semillas germinadas en diferentes fechas de conteo para confeccionar la curva de germinación acumulada; además se evaluaron los siguientes indicadores indirectos de vigor: la Energía Germinativa (EG), Período de energía (PE), Velocidad de germinación (VG) e Índice de velocidad de germinación (IVG), entendiéndose por dichos indicadores a:

Energía Germinativa (EG): Porcentaje de germinación acumulado diario, obtenido al momento en que la tasa de germinación alcanza su valor máximo (González *et al.*, 2008).

Periodo de Energía (PE): Cantidad de días requeridos para alcanzar la máxima tasa de germinación (González *et al.*, 2008).

Velocidad de Germinación (VG): Nakagawa (1999). Se calculó mediante la Ecuación 1.

$$\sum_{i=1}^n NiGi / \sum_{i=1}^n Gi \quad [\text{Ec. 1}]$$

Donde:

N1, N2, ..., Nn: representan el número de días desde la iniciación del ensayo de germinación, G1, G2, ..., Gi: representan el número de semillas germinadas en el día i-ésimo. Se observa que el valor G es una media aritmética de los Ni (días necesarios para la germinación) ponderada por los Gi y por ello las unidades que corresponden a esta velocidad son días.

Índice de Velocidad de Germinación (IVG) (Maguire, 1962; Villagra, 1997; Nakagawa, 1999). Se calculó mediante la Ecuación 2.

$$\sum_{i=1}^n Gi/Ni \quad [\text{Ec.2}].$$

Donde:

Ni y Gi tienen el mismo significado que en la fórmula anterior.

2.4 Análisis estadístico

Se utilizó análisis de varianza y pruebas de comparaciones múltiples de Tukey con un nivel de significación α del 5 % para detectar diferencias entre los promedios del número de semillas germinadas, EG, PE, VG e IVG, mediante el uso de Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2016). Las pruebas de Shapiro Wilks y de Levene se utilizaron para comprobar el cumplimiento de los supuestos, de normalidad y homogeneidad de varianzas. Cuando dichos supuestos no se cumplieron, se empleó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (Kuehl, 2001).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el test de tetrazolio se identificó un $41,67 \pm 23,84$ % de semillas viables en promedio (Tabla 2). En ocasiones se recomienda este test como buen predictor de la germinación, tanto para semillas de *Quercus* como de otras especies forestales; aunque presenta algunos inconvenientes (Bonner, 1984; ISTA, 2014; Moreno-Álvarez *et al.*, 2001). Posiblemente la mayor dificultad es encontrar un protocolo adaptado a cada especie, de forma que las tinciones sean lo suficientemente homogéneas para asegurar una buena interpretación de los resultados. Los mismos, pueden verse afectados por la cantidad de lípidos, tiempo de tinción, condiciones de temperatura en las que se lleva a cabo la reacción, o incluso experiencia del analizador en dicha especie y en el método (Benito-Matías *et al.*, 2004). Si bien esta prueba ha sido utilizada en numerosas especies forestales como ser *Bombacopsis quinata* y *Tabebuia rosea* (Cordero, 1994); *Enterolobium cyclocarpum*, *Gliricida sepium* y *Delonix regia* (Pivaral Leiva, 1999), *Pinus pinea* (Benito-Matías, 2004); *Schinopsis balansae* (Alzugaray *et al.*, 2005); *Aspidosperma quebracho-blanco* (Alzugaray *et al.*, 2006); *Rubia fruticosa* (Marrero *et al.*, 2007); *Maytenus vitis-idaea* (Bueno *et al.*, 2009); *Cedrela fissilis* (Barone *et al.*, 2016) entre otras, para la especie en estudio no existen antecedentes acerca del uso de este test de viabilidad; no así para el test de conductividad eléctrica masal, que ha sido ajustado para la misma por varios autores (Ataíde *et al.*, 2012; Guollo *et al.*, 2017).

Tabla 2. Determinación de viabilidad promedio de las semillas de *P. nitens* mediante la prueba topográfica de tetrazolio; clasificadas según el patrón propuesto por Fogaça *et al.*, (2006)

% de cada clase								Viabilidad (%)
1	2	3	4	5	6	7	8	
21,40	14,10	11,60	1,22	28,80	11,65	4,90	6,13	41,67±23,84

En la Tabla 3 se presenta la evaluación de la clasificación final de las semillas con la matriz de confusión mediante el test de tetrazolio y el ensayo de germinación a temperatura ambiente (T3); tomado éste último como referencia por ser el registro más semejante al utilizado en la incubación de la prueba de viabilidad; los resultados obtenidos muestran que la coincidencia en semillas no viables fue del 79,12 %. Por ello, en este estudio, el test de tetrazolio ha sido de alta eficiencia para caracterizar semillas no viables.

Tabla 3. Evaluación de la clasificación final del sistema de determinación de viabilidad promedio en semillas de *P. nitens* (Viables/No viables), por matriz de confusión

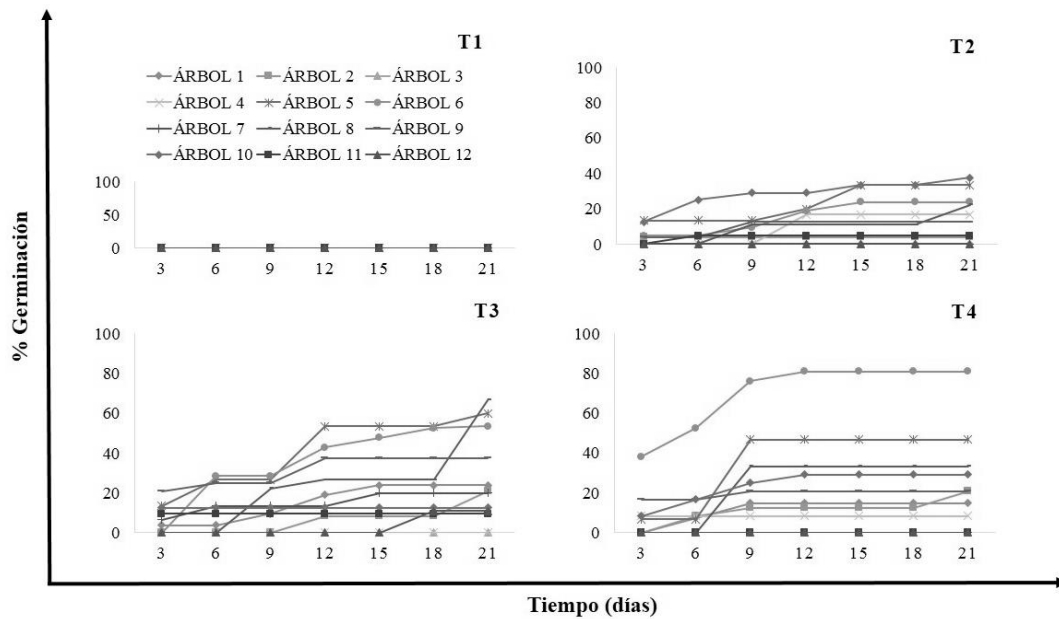
Clasificación ensayo germinación	Clasificación test de tetrazolio		Coincidencia %
	Viables	No viables	
Viables	26,28	41,67	18,16%
No viables	73,72	58,33	79,12%

De acuerdo con Bidwell (2000) el envejecimiento es un factor que generalmente disminuye la viabilidad en las semillas, y es de suma importancia para determinar el periodo de tiempo en el que conservan su capacidad para germinar y así lograr una propagación exitosa (Hartmann y Kester, 1994). Carvalho y Nakagawa (2012) argumentan que el porcentaje de viabilidad está influenciado por las características genéticas de la planta progenitora y por factores ambientales como las condiciones climáticas durante la floración, formación, desarrollo y maduración del fruto, el grado de madurez de la semilla al momento de la cosecha y el manejo durante la colecta y la poscosecha, a pesar de que estos factores no se analizaron en el presente trabajo.

Existieron árboles cuyos valores de porcentaje germinación estuvieron por encima del valor promedio sugiriendo la influencia del genotipo en la calidad de la semilla. Existen diversos estudios de la influencia de la procedencia geográfica de las semillas sobre la germinación y el crecimiento de especies forestales; e inclusive muchos de ellos indican diferencias en cuanto al vigor de crecimiento de las plántulas (Juárez-Agis *et al.*, 2006; Viveros-Viveros *et al.*, 2017). Del mismo modo las condiciones de almacenamiento pueden afectar generando variaciones del vigor con el transcurso del tiempo (Fontana *et al.*, 2016). En nuestro trabajo, la procedencia y el tamaño de los árboles fueron semejantes, lo que refuerza la idea de la variabilidad genotípica del lote ensayado.

Como se observa en la curva de germinación acumulada (Figura 1), la respuesta a los diferentes tratamientos fue muy variable; pero en general el tratamiento T1 no fue efectivo para ninguna de las semillas sin importar de qué individuo provengan. La temperatura a la que se deben mantener las semillas es aquella en la que se obtenga la germinación más rápida y más completa posible. Las temperaturas para pruebas de especies tropicales oscilan entre 15 y 35 °C y puede ser constante o alterna (Thomson, 1979); por ello el crecimiento suele verse detenido con temperaturas por debajo de los 10 °C. Las especies de la familia fabaceae se caracterizan por presentar la testa dura, condición que afecta la germinación. Para mejorar este proceso y acelerar la obtención de plántulas existen diversos tratamientos pre-germinativos como la escarificación mecánica, química o física entre otras (Atencio *et al.* 2003).

El tratamiento T4, que combina el tratamiento T1 (heladera 8±2 °C) y T2 como estratificación en frío, tuvo el menor tiempo en el proceso de desencadenar la germinación respecto a los demás tratamientos; como se observa en la curva de germinación acumulada (Figura 1). Mediante la estratificación en frío no sólo se supera la latencia fisiológica, sino que se puede reducir también la sensibilidad de las semillas durmientes y no durmientes a sus necesidades óptimas de luz y temperatura, de lo que se deriva un incremento de la tasa de germinación y de la uniformidad de ésta en condiciones diversas (Wilan 1991; Patiño *et al.*, 1983; Hartmann y Kester, 1994; Donoso, 1993). Los resultados sugieren que la estratificación en frío actúa como un promotor de la germinación y se puede deber a adaptaciones al ambiente natural, en los cuales, se originó la especie (Manjkhola *et al.* 2003). Es aplicada en diversas especies forestales como ser *Pinus*, (Basil *et al.*, 2001), *Pinus taeda* (Krugman y Jenkinson, 1974), *Fraxinus excelsior*, *Crataegus monogyna* (Gordon y Rowe, 1982), *Nothofagus pumilio*, *Nothofagus antártica*, *Nothofagus obliqua*, *Pinus ponderosa*, *Pseudotsuga menziesii* y *Pinus jeffreyi* (Varela y Arana, 2011; Donoso *et al.*, 2013), entre otras.



Referencias: T1= 8±2 °C (heladera), T2= 27 °C (cámara climatizada); T3=Temperatura ambiente invernadero (29 °C) y T4= T1 por 21 días (estratificación en frío) y luego T2 por 21 días.

Figura 1. Curva de germinación acumulada para las semillas de los diferentes individuos de *P. nitens*

Los valores máximos de porcentaje de germinación se alcanzaron en general con los tratamientos T3 y T4; donde se han registrado valores de hasta 66,60±5,24 % de germinación en el árbol N° 8 y 79,50±5,24 % en el árbol N° 6 para los respectivos tratamientos (Figura 2). Como así también otros individuos no registraron germinación alguna para los mismos tratamientos. En el tratamiento T3 la mayoría de los individuos manifestaron su menor periodo de energía (PE) 3±1,59 días. Para esta variable se encontraron diferencias significativas para el tratamiento T3 con respecto a los demás (Tabla 4). En promedio con T3 se ha conseguido mejorar los resultados reportados por Pece *et al.* (2010) que lograron un periodo de energía de entre 5,75 y 9,75 días con tratamientos pre-germinativos mucho más agresivos, utilizando ácido.

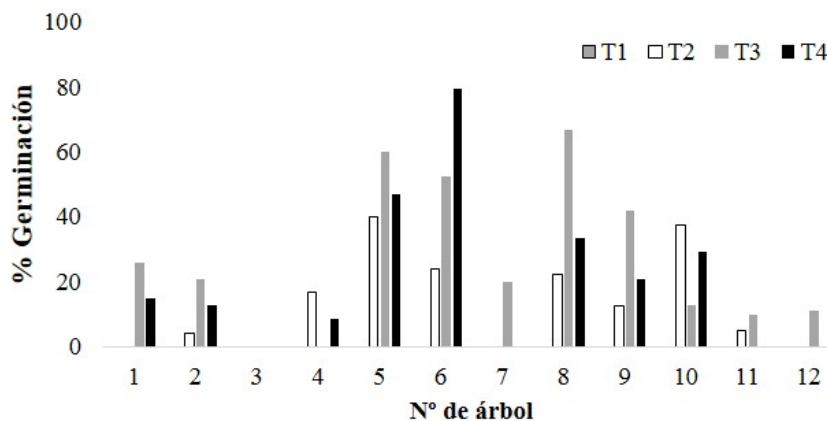


Figura 2. Porcentaje de germinación en semillas de *P. nitens*

Por otra parte, para energía germinativa (EG) si bien no se mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los tratamientos T3 y T4; con el tratamiento de estratificación en frío (T4) se logró los mayores valores ($40 \pm 2,76$ %); estos resultados indican que cuando las semillas recibieron frío previo a la siembra aumentaron su energía, lo cual es coincidente con lo obtenido en la investigación de Mann y colaboradores (2008). El tiempo estipulado para calcular el porcentaje de semillas que germinó en general varía con la especie, y para la especie se registran datos de referencia generados por Pece *et al.* (2010) que varían entre 3,50 y 22 % para distintos tratamientos pre-germinativos.

Igual comportamiento se observó para velocidad de germinación (VG), no encontrándose diferencias significativas entre T3 y T4; Pece *et al.* (2010) sostiene que cuánto menor es el valor de VG, menor es el número de días utilizados en la germinación, por lo tanto, mayor es la energía de germinación; en T3 se ha logrado registrar el menor valor siendo este de $3 \pm 1,61$ días, muy similar al reportado por el mismo autor. Generalmente la velocidad de germinación aumenta en forma directa con la temperatura, respondiendo a fluctuaciones estacionales y cotidianas (Taylor *et al.*, 1999). El valor óptimo en la condición alternante para la germinación en la mayoría de las semillas varía de 20 a 35 °C, y difiere entre poblaciones de una misma especie y entre árboles de un mismo rodal (Patiño *et al.*, 1983).

En cuanto al índice de velocidad de germinación (IVG) lo fue en T3 con $0,71 \pm 0,04$ semillas germinadas por día (Tabla 4); aunque no se encontraron diferencias significativas entre T3 y T4. Este índice expresa la velocidad en número de semillas germinadas por día. Por lo tanto, cuanto mayor es, mayores son la velocidad y el vigor del lote. Si bien estos resultados no se comparan a los obtenidos por Pece *et al.* (2010), el mayor valor del índice corresponde al tratamiento con temperaturas más próximas al óptimo registrado para la especie (Nassif y Perez, 2000).

En cuanto a estudios relacionados con la germinación de *P. nitens*, Rovira *et al.* (2001) comparando la germinación bajo condiciones de laboratorio y de campo, refieren mayor variabilidad en laboratorio. Pece *et al.* (2010) aconsejan una temperatura de estufa constante de 30 °C durante todo el ensayo, para estimular la germinación y Tapia *et al.* (2014) proponen escarificación física como tratamientos pre-germinativos con el propósito de acelerar y uniformizar la germinación. Álvarez Tonin *et al.* (2005) estudiaron la influencia de la temperatura y el acondicionamiento osmótico en la viabilidad y el vigor de semillas sugiriendo que el acondicionamiento osmótico a 10 °C es más eficiente que a 27 °C; Peres Biruel *et al.* (2007), han estudiado la eficiencia del acondicionamiento de las semillas expuestas a envejecimiento acelerado y su influencia sobre la germinación; mientras que Morandini *et al.* (2013) analizaron la tolerancia a la desecación de las semillas para su almacenamiento y su posterior influencia en la germinación. Nassif y Perez (2000), por su parte determinaron que esta especie germina en un rango de temperatura con valores mínimos entre 12 y 15 °C, óptimos entre 18 y 30 °C y máximos entre 39 y 42 °C. Su velocidad de germinación es dependiente de la temperatura, ocurriendo los mayores valores de entre 24 y 30 °C. En esta experiencia si bien se manejaron temperaturas más específicas y el método de escarificado propuesto por Tapia *et al.* (2014), la germinación de las semillas se desencadenó dentro del mismo rango reportado por los últimos autores mencionados.

Tabla 4. Parámetros de vigor correspondientes a la germinación de semillas de *P. mitens*.

Árbol	EG				IVG				VG				PE			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
1	0,00±0a	0,00±0ab	7,40±2,67b	7,40±2,67b	0,00±0a	0,00±0ab	0,30±0,04ab	0,08±0,04b	0,00±0a	0,00±0ab	12,42±1,61b	16,50±1,61b	0±0a	0±0ab	6±1,59b	15±1,59b
2	0,00±0a	4,16±2,67ab	12,50±2,67b	8,32±2,67b	0,00±0a	0,11±0,04ab	0,10±0,04ab	0,06±0,04b	0,00±0a	3,00±1,61ab	17,14±1,61b	12,00±1,61b	0±0a	3±1,59ab	21±1,59b	15±1,59b
3	0,00±0a	0,00±0ab	0,00±0b	0,00±0b	0,00±0a	0,00±0ab	0,00±0ab	0,00±0b	0,00±0a	0,00±0ab	0,00±0b	0,00±0b	0±0a	0±0ab	0±0b	0±0b
4	0,00±0a	16,65±2,67ab	0,00±0b	8,32±2,67b	0,00±0a	0,06±0,04ab	0,00±0ab	0,03±0,04b	0,00±0a	12,00±1,61ab	0,00±0b	12,00±1,61b	0±0a	12±1,59ab	0±0b	12±1,59b
5	0,00±0a	13,32±2,67ab	13,32±2,67b	40,00±2,67b	0,00±0a	0,31±0,04ab	0,48±0,04ab	0,14±0,04b	0,00±0a	11,50±1,61ab	9,00±1,61b	17,14±1,61b	0±0a	3±1,59ab	3±1,59b	18±1,59b
6	0,00±0a	9,51±2,67ab	28,57±2,67b	38,08±2,67b	0,00±0a	0,23±0,04ab	0,46±0,04ab	0,40±0,04b	0,00±0a	10,20±1,61ab	9,54±1,61b	14,82±1,61b	0±0a	12±1,59ab	6±1,59b	12±1,59b
7	0,00±0a	0,00±0ab	6,66±2,67b	0,00±0b	0,00±0a	0,00±0ab	0,19±0,04ab	0,00±0b	0,00±0a	0,00±0ab	8,00±1,61b	0,00±0b	0±0a	0±0ab	3±1,59b	0±0b
8	0,00±0a	11,10±2,67ab	22,20±2,67b	33,33±2,67b	0,00±0a	0,05±0,04ab	0,16±0,04ab	0,06±0,04b	0,00±0a	15,00±1,61ab	14,00±1,61b	18,00±1,61b	0±0a	9±1,59ab	9±1,59b	18±1,59b
9	0,00±0a	8,33±2,67ab	20,83±2,67b	16,66±2,67b	0,00±0a	0,19±0,04ab	0,71±0,04ab	0,13±0,04b	0,00±0a	7,00±1,61ab	7,79±1,61b	13,24±1,61b	0±0a	9±1,59ab	3±1,59b	12±1,59b
10	0,00±0a	12,50±2,67ab	12,50±2,67b	8,32±2,67b	0,00±0a	0,58±0,04ab	0,33±0,04ab	0,15±0,04b	0,00±0a	7,99±1,61ab	3,00±1,61b	15,85±1,61b	0±0a	3±1,59ab	3±1,59b	12±1,59b
11	0,00±0a	4,76±2,67ab	9,51±2,67b	0,00±0b	0,00±0a	0,06±0,04ab	0,22±0,04ab	0,00±0b	0,00±0a	6,00±1,61ab	3,00±1,61b	0,00±0b	0±0a	6±1,59ab	3±1,59b	0±0b
12	0,00±0a	0,00±0ab	11,10±2,67b	0,00±0b	0,00±0a	0,00±0ab	0,02±0,04ab	0,00±0b	0,00±0a	0,00±0ab	18,00±1,61b	0,00±0b	0±0a	0±0ab	18±1,59b	0±0b

Tratamientos con una letra en común dentro de cada parámetro medido no presenta diferencia significativa ($p \leq 0,05$).

Referencias: G: Germinación (%); PE: periodo de energía (días); EG: energía germinativa (%); VG: velocidad de germinación (días); IVG: índice de velocidad de germinación (semillas germinadas/días).

4. CONCLUSIONES

Este estudio básico permite obtener información acerca del efecto de la temperatura de incubación en la germinación de semillas de *P. nitens*; aunque no se identificó un patrón claro de desarrollo con diferentes condiciones de incubación, se puede mencionar que *P. nitens* necesita temperaturas promedio de 29 °C para desencadenar el proceso. Además, con la estratificación en frío se logró un efecto favorecedor en algunos indicadores de vigor.

Las semillas de *P. nitens* perdieron viabilidad en un corto tiempo, por ello si bien los resultados presentados en este trabajo son preliminares, se reconoce necesario realizar más estudios en la temática para desarrollar una metodología de trabajo de estimación de la viabilidad en esta especie. La calidad del lote de semillas estudiado podría considerarse baja dado el elevado porcentaje de semillas no viables. Con los resultados presentados se contribuye al conocimiento del manejo adecuado de semillas de *P. nitens* para favorecer la supervivencia de las plantas en condiciones naturales y útiles también para la toma de decisiones al momento de iniciar la producción en vivero; destacando la importancia de complementar los ensayos de germinación con pruebas o test de viabilidad que además de ser fáciles, prácticas y económicas, se usan para obtener más información acerca de la calidad de semillas.

AGRADECIMIENTOS

La ejecución de este trabajo fue posible gracias al apoyo de los siguientes proyectos INTA-AUDEAS-CONADEV- CIAC-940173 y PI 16A001 (SGCyT-UNNE).

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez Tonin, G.; A. B. Gatti; B. Primieri Carelli y S. Juliano Gualtieri de Andrade Perez. 2005. Influência da temperatura de condicionamento osmótico na viabilidade e no vigor de sementes de *Pterogyne nitens* Tull. *Revista Brasileira de Sementes* 27(2): 35-43.
- Alzugaray, C.; N. Carnevale; A. Salinas y R. Pioli. 2005. Observations on Seed Quality of *Schinopsis balansae* Engl., a Tree Species Endemic to South America. *Seed Technology* 27 (1): 49-58.
- Alzugaray, C.; N. Carnevale; A. Salinas y R. Pioli. 2006. Calidad de semillas de *Aspidosperma quebracho-blanco* Schlecht. *Quebracho* (13):26-35.
- APN-SIB (Administración de Parques Nacionales. Sistema de Información de Biodiversidad). 2010. [en línea]. [Fecha de consulta: agosto 2016]. Disponible en: <<http://www.sib.gov.ar>>
- Ataíde, G. M.; A. V. Flores; E. E. L. Borges y R. T. Resende. 2012. Adequação da metodologia do teste de condutividade elétrica para sementes de *Pterogyne nitens* Tull. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 7(4): 635-640.
- Atencio, L.; R. Colmenares; M. Ramirez Villalobos y D. Marcano. 2003. Tratamientos pre-germinativos en acacia San Francisco (*Peltophorum pterocarpum*) Fabaceae. *Revista de la Facultad de Agronomía LUZ* 20 (1): 63-71.
- Barone, J.; E. Duarte y C. Luna. 2016. Determinación de la eficacia de métodos de evaluación de calidad de semillas de especies forestales nativas de la Selva Atlántica. *Quebracho* 24(1,2):70-80.
- Basil, G.; Leanza, M.; Honorato, M. 2001. Ensayo de germinación de semillas de pino con diferentes estratificaciones en frío. *Patagonia Forestal*. CIEFAP, Vol. 7(4):13-15.
- Baskin, C. C. y J. M. Baskin. 2001. *Seed: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. Academic, San Diego, EEUU.
- Benito-Matías, L.; N. Herrero Sierra; I. Jiménez y R. Peñuelas. 2004. Aplicación de métodos colorimétricos para la determinación de la viabilidad en semillas de *Pinus pinea*: test de tetrazolio e índigo carmín. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales* 17(23-28).

- Bewley, J. y M. Black. 1994. *Seeds: Physiology of Development and Germination*. New York and London, Plenum Press. 445 p.
- Bidwell, R.G.S. 2000. *Fisiología vegetal*. AGT Editores, S.A. México, DF, 784 pp.
- Bonner, F. T. 1984. *Tratamiento previo de la Semilla*. En: *Guía para la manipulación de semillas forestales. 1991*. Estudio FAO Montes 20/2. Compilado por R.L. Willan para el Centro de Semillas Forestales de DANIDA, pp. 241-278.
- Bueno, M.; C. Alzugaray; A. Giubileo; C. Severina y N. Carnevale. 2009. Evaluación de la calidad fisiológica de semillas de *Maytenus vitis-idaea* cultivadas *in vitro*. *Bosque* 30(3): 146-150.
- Carvalho, N. M.; F. J. F. De Souza; G. Tostes y I. T. De Aguiar. 1980. Maduración fisiológica de semillas de amendoim-do-campo. *Revista Brasileira de Sementes* 2(2):23-28.
- Carvalho, N. y J. Nakagawa. 2012. *Sementes: Ciência, Tecnologia e Produção*. 5 ed. Jaboticabal: FUNEP. 590 p.
- Carvalho, P. 1994. *Espécies Florestais Brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira*. Colombo: Embrapa. 640 p.
- Colombo-Speroni, F. y M. L. de Viana. 2002. Requerimientos de escarificación en semillas de especies autóctonas e invasoras. *Ecología Austral* 10: 123-131.
- Cordero, C. 1994. *Determinación de la viabilidad en semillas de Bombacopsis quinata y Tabebuia rosea, comparación con resultados de viveros*. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Tesis de especialidad. 64 p.
- Craviotto, R. M.; M. Arango Perearnau y C. Gallo. 2008. *Prueba Topográfica por Tetrazolio en Soja*. Suplemento Especial N° 1, 96 p. Editor: Guillermo Rolando. ISSN 1851-9415. Rosario. Argentina.
- Del Castillo, E. M.; M. N. Gil; M. Terán; S. Cravero y M. A. Zapater. 1997. *Tipa colorada: su autoecología*. Resúmenes del primer taller internacional de recursos filogenéticos del Noroeste argentino. Salta. Argentina.
- Di Rienzo, J. A.; F. Casanoves; M. G. Balzarini; L. Gonzalez; M. Tablada y C. W. Robledo. 2016. *InfoStat Software Estadístico. Manual del Usuario*. 329 p.
- Dimitri, M. J.; R. F. Leonardis y J. S. Biloni. 2000. *El nuevo libro del árbol. Especies forestales de la Argentina oriental*. Tercera edición. Tomo II. Ed. El Ateneo. Buenos Aires, p120.
- Donoso, C. 1993. *Bosques Templados de Chile y Argentina. Variación, Estructura y Dinámica*. Editorial Universitaria, Santiago de Chile. 483 pp.
- Donoso, C.; L. Steinke y A. Premoli. 2013. *Nothofagus antarctica* (G. Forster) Oerst. In Donoso C ed. *Las especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina: Autoecología*. Valdivia, Chile. 2da. Edición. Marisa Cuneo Ediciones. p. 402-410.
- Fogaça, C., M. Malavasi; C. Zucareli y U. Malavasi. 2006. Aplicação do teste de tetrazólio em sementes de *Gleditschia amorphoides* Taub. Caesalpinaceae. *Revista Brasileira de Sementes* 28(3), 101-107.
- Fontana, M. L.; V. R. Pérez y C. V. Luna. 2016. Pruebas de envejecimiento acelerado para determinar vigor de semillas de *Prosopis alba* de tres procedencias geográficas. *Revista FAVE - Ciencias Agrarias* 15 (1):1-13.
- González, M.; I. Quiroz; E. Gracia y B. Gutiérrez. 2008. Escarificación química con ácido sulfúrico como tratamiento pregerminativo para semillas de toromiro (*Sophora toromiro* Skotts.). *Ciencia e Investigación Forestal* 14(1):111-118.
- Gordon, A.G. y D.C.F. Rowe. 1982. *Seed manual for ornamental trees and shrubs*. For. Comm. Bull. 59, HMSO, Londres.
- Guollo, K.; J. Possenti; M. Felippi; E. Del Quiqui y T. Magalhães Loiola. 2017. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes florestais através do teste de condutividade elétrica. *Colloquium Agrariae* 13(1):86-92.

- Hartmann, H.T. y D.E. Kester. 1994. *Propagación de Plantas y Principios Básicos*. CECSA. México, DF, 760 pp.
- ISTA. 2014. *International Rules for Seed Testing*. I.S.T.A. (International Seed Testing Association). Zurich, Suiza.
- Jordano, P.; R. Zamora Rodríguez; T. Marañón y J. Arroyo. 2002. Claves ecológicas para la restauración del bosque mediterráneo: aspectos demográficos, ecofisiológicos y genéticos. *Ecosistemas* 11(1): 83-92.
- Juárez-Agis, A.; J. López; J.J. Vargash y C. Sáenz-R. 2006. Variación geográfica en la germinación y crecimiento inicial de plántulas de *Pseudotsuga menziessi* de México. *Agrociencia* 40 (6): 783- 792.
- Krugman, S.L. y J.L. Jenkinson, 1974. *Pinus*. En *Seeds of woody plants in the United States*. Agricultural Handbook 450, Forest Service, USDA, Wáshington D.C.
- Kuehl, R. 2001. *Diseño de experimentos: principios estadísticos para el diseño y análisis de investigaciones*. Segunda edición. International Thomson Editores, S.A. de C.V., México, DF. 666 pp.
- Legname, R. 1982. *Arboles indígenas del Noroeste argentino*. Opera Lilloana XXXIV, lam 51. Inst. M. Lillo. Tucumán.
- Maguire, J.D. 1962. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergente and vigor. *Crop Science* 2, 176-177.
- Mann, R.; A. Kshitij; C. Singh; V. Aeri y R.K. Nema. 2008. “Adeventitious shoot proliferation from aseptically germinated seedlings of *Cuminum cyminum*. *Pharmacognosy Magazine*. 4(14) :132-137.
- Manjkhola, S.; U. Dhar; R.S. Rawal. 2003. Treatments to improve seed germination of *Arnebia benthamii*: an endangered medicinal herb of high altitude Himalaya. *Seed Science and Technology*. (Suiza). 31:571-577.
- Marrero, P.; D. Padilla; F. Valdés y M. Nogales. 2007. Comparison of three chemical tests to assess seed viability: the seed dispersal system of the Macaronesian endemic plant *Rubia fruticosa* (Rubiaceae) as an example. *Chemoecology* 17 (1): 47-50.
- Moraes, M. R.; B. Ollgaard; L. P. Kvist; F. Borchsenius y H. Balslev. 2006. *Botánica Económica de los Andes Centrales*. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz. 533 pp.
- Morandini, M. N.; E. M. Giamminola y M. L. de Viana. 2013. Tolerancia a la desecación de semillas de *Prosopis ferox* y *Pterogyne nitens* (Fabaceae). *Revista de Biología Tropical* 61 (1), 335-342
- Moreno-Álvarez, M.; L. Benito-Matías; N. Herrero; S. Domínguez y J. Peñuelas. 2001. *Estudio de nuevos métodos de determinación de la viabilidad de las semillas forestales: Test de electroconductividad e índigo carmín. Comparación con el test del tetrazolio y su aplicación a Pinus pinaster y Pinus halepensis*. Actas del III Congreso Forestal Español. Granada., Mesa 3:653-658.
- Nakagawa, J. 1999. *Teste de vigor baseados no desempenho das plântulas. Cap. 2 de Vigor de sementes: conceitos e testes* Ed. ABRATES. Londrinás, PR Brasil.
- Nascimento, W.; E. Cruz; M. Moraes y J. Menten. 2006. Qualidade sanitária e germinação de sementes de *Pterogyne nitens* Tull. (Leguminosae - Caesalpinioideae). *Revista Brasileira de Sementes* 28(1): 149-153.
- Nassif, S. y S. Perez. 2000. Efeitos da temperatura na germinação de sementes de Amedoin-do-campo (*Pterogyne nitens* Tul.). *Revista Brasileira de Sementes* 22: 1-6.
- Nassif, S.M. L. y P.S.C. De Andrade. 1997. Germinação de sementes de amendoim-do-campo (*Pterogyne nitens* tul.): influência dos tratamentos para superar a dormência e profundidade de semente. *Revista Brasileira de sementes* 19(2):171-178.
- Ordoñez, A. 1987. *Germinación de las tres especies de Nothofagus siempreverdes (Coigües), y variabilidad en la germinación de procedencias de Coigüe común (Nothofagus dombeyi (Mirb) Oerst)*. Tesis Ing. Forestal. Fac. de Cs. Forestales. Univ. Austral de Chile. Valdivia. 134 pp.

- Patiño, F.; P. de la Garza; Y. Villagomez; I. Talavera y F. Camacho. 1983. *Guía para la recolección y manejo de semillas de especies forestales*. México D.F. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. Subsecretaría Forestal. Boletín Divulgativo N° 63. 181 pp.
- Pece, M.; C. Gaillard; M. Acosta; C. Bruno y S. Saavedra. 2010. Tratamientos pregerminativos para tipa colorada (*Pterogyne nitens* Tul.). *Foresta Veracruzana* 12 (1): 17-25.
- Peres Biruel, R.; A. B. Borba Filho; E. C. E. de Araújo; F. Fraccaro; S. de Andrade y C. J. G. Perez 2007. Efeitos do condicionamento seguido ou não de secagem em sementes de *Pterogyne nitens* Tul. sob estresse. *Ciência Florestal* 17 (2): 119-128.
- Perissé, P.; R.J. Lovey; C.V. Arias; M. Scandaliaris y M.L. Molinelli. 2011. Morfología de semilla y plántula de *Dicliptera squarrosa* Nees (Acanthaceae) como fuente de caracteres para su identificación y su relación con estructuras de supervivencia. *Phyton* 80(1): 73-78.
- Pivaral Leiva, L. 1999. *Desarrollo de patrones de tinción de tetrazolio e índigo carmín, para determinar viabilidad en semilla de Enterolobium cyclocarpum, (Jacq) Griseb. (Conacaste), Gliricida sepium (jacquin) Kunth ex Walper (Madrecacao) y Delonix regia (Bojer) Raf. Fl. Tellur. (Flamboyan)*. Tesis para optar al grado de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola. Universidad de San Carlos de Guatemala. 92 p.
- Popinigis, F. 1972. *Immediate effects of mechanic injury on soybean (Glycine max (L) Merr.)*. MS Tesis. Mississippi State University. Starkville. 72 pp.
- Rasband, W.S. 2016. *ImageJ*, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA. 91 en línea [fecha de consulta: septiembre 2017]. Disponible en: <<https://imagej.nih.gov/ij/>>.
- Regasini, L.; D. C. Fernandes; I. Castro Gamboa; et al. 2008. Constituintes químicos das flores de *Pterogyne nitens* (Cesalpinoideae). *Química Nova* 31 (4): 802-806.
- Rovira, J.; V. Mainardi; M. E. Amado; C. Rodríguez y J. A. Rodríguez Rey. 2001. Ensayos de germinación en condiciones de laboratorio y de campo para tres especies forestales de Tucumán. *En: Avances en la Producción Vegetal del N.O.A. (1998-2001)* p. 120-123.
- Ruiz, M. y O. Terenti. 2012. Evaluación comparativa de cuatro especies forrajeras bajo condiciones de estrés hídrico y salino durante la germinación. *Agriscientia* 29(2): 91-97.
- Soto Gonzales, J. y S. Valiengo Valeri. 2011. Prueba de la conductividad eléctrica en la evaluación fisiológica de la calidad de semillas en *Zeyheria tuberculosa*. *Bosque* (Valdivia) 32(2):197-202.
- Tapia, A. M.; A. Romero; V. Luque; P. Gervasoni; S. Aybar; A. Lobo Furque y I. Gómez, 2014. Influencia de la escarificación física en la germinación de semillas de tipa colorada (*Pterogyne nitens* Tul ex Benth). *Revista Agronómica del Noroeste Argentino* 34 (2): 58-59.
- Taylor, J. P.; D. B. Wester y L. M. Smith. 1999. Soil disturbance, flood management, and riparian woody plant establishment in the Rio Grande floodplain. *Wetlands* 19: 372-382.
- Thomson, J. 1979. *Introducción a la tecnología de semillas*. Traducido por Paloma Melgarejo de Nádiz. Editorial Acribia, Zaragoza, España. 301 pp.
- Varela, S. y V. Arana. 2011. *Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos*. Serie técnica: "Sistemas Forestales Integrados" Área Forestal - INTA EEA Bariloche Sección: "Silvicultura en vivero" Varela, S. A. y Aparicio, A. (eds.) Cuadernillo N° 3: 10 p. ISSN: 1853-4775.
- Villagra, P. 1997. Germination of *Prosopis argentina* and *P. alpataco* seeds under saline conditions. *Journal of Arid Environments* 37:261-67.
- Viveros-Viveros, H.; K. Quino-Pascual; M. Velasco-García; G. Sánchez-Viveros y E. Velasco Bautista. 2017. Variación geográfica de la germinación en *Enterolobium cyclocarpum* en la costa de Oaxaca, México. *Bosque* 38(2): 317-326.
- Willan, R. L. 1991. *Guía para la manipulación de semillas forestales: con especial referencia a los trópicos*. Roma: FAO. [Estudio FAO Montes 20/2] 502 p. ISBN 92-5-302291-4.

