

Patrones de germinación de semillas de *Sebastiania commersoniana* (Baillon) Smith & Downs (Euphorbiaceae), árbol nativo del Chaco Serrano de interés en restauración

TATIANA A. VALFRÉ-GIORELLO^{1,✉}; LORENA ASHWORTH² & DANIEL RENISON³

1. FCEfyN, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina.

2. Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, CONICET-UNC, FCEfyN, Universidad Nacional de Córdoba.

3. Centro de Ecología y Recursos Naturales Renovables Dr. Ricardo Luti. CONICET-UNC, FCEfyN, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina.

RESUMEN. El desarrollo de técnicas de reforestación con especies nativas es un paso importante para lograr la conservación y restauración de bosques. Aquí estudiamos patrones y capacidad germinativa bajo diversas condiciones de un árbol nativo del Chaco Serrano: *Sebastiania commersoniana* (Euphorbiaceae). Esta especie presenta variaciones importantes en la germinación entre semillas de tegumento marrón claro y marrón oscuro, quizás porque las primeras sean abortivas o dañadas por insectos fitófagos. En una de las poblaciones, los árboles de menor altura y las semillas de mayor peso presentaron mayor capacidad germinativa. Esto último podría deberse a que las semillas más pesadas contienen más reservas para el embrión en crecimiento, lo cual le permitiría germinar de manera más eficaz. No se observaron diferencias significativas en la germinación tras la realización de diferentes experimentos de remoción de carúncula, tiempo de almacenamiento, temperaturas y tratamientos pre-germinativos de humedad y desinfección.

[Palabras clave: efecto materno, altura de planta madre, coloración de semilla, tamaño de semilla, tratamientos pre-germinativos]

ABSTRACT. Germination patterns of *Sebastiania commersoniana* seeds (Baillon) Smith & Downs (Euphorbiaceae), a Chaco Serrano's native tree with restoration interest: The development of reforestation techniques with native species is an important step towards the conservation and forest restoration. Here, we study patterns and germination capacity under different conditions of a native tree from the Chaco Serrano: *Sebastiania commersoniana* (Euphorbiaceae). This species shows significant variations in germination between seeds of light and dark brown coat, perhaps because the light may be abortive or damaged by phytophagous insects. In one of the population, lower trees and heavier seeds had higher germination capacity, the latter could be because heavier seeds contain more reserves for the growing embryo and this would allow more effective germination. There were no significant differences in germination after performing different experiments of caruncle removal, storage time, temperature and pre-germinative moisture and disinfection treatments.

[Keywords: maternal effects, mother plant height, seed color, seed size, pre-germinative treatments]

INTRODUCCIÓN

Los bosques de la provincia de Córdoba, y en particular los pertenecientes al distrito Chaqueño Serrano, han experimentado una presión antrópica fuerte debido principalmente al avance de la frontera agrícola, a la deforestación, al crecimiento urbano, al sobrepastoreo, a los incendios y a las invasiones por especies exóticas (Cabido & Zak 1999; Gavier & Bucher 2004; Aizen et al. 2009; Hoyos et al. 2010). Como resultado de estos procesos, en la provincia hoy sólo queda 6% de la superficie que originalmente ocupaba

el bosque Chaqueño Serrano (Zack et al. 2004), y se han registrado extinciones locales de especies nativas (Cagnolo et al. 2009), impactos negativos sobre la reproducción sexual y la aptitud biológica de la progenie de plantas (Aguilar et al. 2006; Ashworth & Martí 2011) e importantes y avanzados procesos de invasión por especies exóticas arbóreas (Tecco et al. 2006; Hoyos et al. 2010).

En paisajes donde la pérdida de bosques ha sido tan elevada, las fuentes productoras de semillas son muy escasas, y por lo tanto la capacidad de recuperación natural de estas áreas podría ser limitada. En situaciones

✉ FCEfyN, Universidad Nacional de Córdoba. CC 495.
Av. Vélez Sarsfield 299, (5000) Córdoba, Argentina.
tativalfre@gmail.com

Recibido: 29 de septiembre de 2011; Fin de arbitraje: 22 de diciembre; Revisión recibida: 6 de marzo de 2012; Aceptado: 20 de abril.

avanzadas de degradación y pérdida de hábitat, a menudo es necesario intervenir para recuperar el bosque original o para acelerar la regeneración natural y así evitar pérdidas mayores (Lamb & Gilmour 2003). Por lo general, los sitios degradados son reforestados con especies exóticas puesto que se les reconocen ventajas como rápido crecimiento y fácil propagación. Sin embargo, en muchos casos no suministran los servicios ecosistémicos provistos por las nativas (Lamb & Gilmour 2003). Por el contrario, suelen volverse invasoras y así ocasionan efectos nocivos en el ecosistema invadido (e.g., pérdida de biodiversidad) y causan pérdidas económicas grandes (Aguirre & Mendoza 2009). Por estas razones se hace cada vez más importante avanzar en el estudio de la biología básica de especies nativas con el fin de generar conocimiento aplicable en planes de cultivo y producción para su utilización en restauración de ambientes degradados.

En este trabajo se evalúan experimentalmente patrones de germinación de semillas de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L. B. Smith & R. J. Downs (Euphorbiaceae). Esta especie es un árbol nativo del Chaco Serrano, caracterizado como pionero (Piaggio & Delfino 2009) y sugerido para la recuperación de áreas degradadas en las márgenes de ríos y embalses de usinas hidroeléctricas ya que tiene buen crecimiento en suelos inundables (Demaio et al. 2002; Pimenta et al. 1998). Se distribuye en el sur de Brasil, este de Paraguay, Uruguay y Argentina (Demaio et al. 2002). En Argentina se lo encuentra en las provincias de Salta, Jujuy, Tucumán, Misiones, Corrientes, Entre Ríos, Buenos Aires y Córdoba (Zuloaga & Morrone 1999), con frecuencia asociada a ríos y arroyos. Florece entre octubre y diciembre y fructifica entre enero y marzo. Sus flores son melíferas, sus frutos son cápsulas leñosas con dehiscencia explosiva y contienen tres semillas (Demaio et al. 2002; Santos & Aguiar 2005). Las semillas presentan carúncula, tegumento liso permeable al agua (Carvalho 1994, citado en Santos & Aguiar 2005) y pueden tener diferentes coloraciones dentro del mismo fruto: oscuro (marrón oscuro a negro), estriado (marrón oscuro con estrías grises) y claro (gris pálido a blanquecino), pero esta información no es consistente en la literatura (Carvalho 1994; Longhi 1995, citados en Santos & Aguiar 2005). La dispersión secundaria de las semillas suele ser llevada a cabo por hormigas (Demaio et al. 2002). En este proceso, las hormigas extraen la carúncula para utilizarla como alimento (Fenner & Thompson 2005), lo cual

podría favorecer la germinación, como ha sido observado en otras especies (Lobstein & Rockwood 1993; Mendes et al. 2009).

La información que se conoce sobre la germinación de *S. commersoniana* proviene de trabajos realizados en Brasil, donde se ha encontrado que la coloración de las semillas está relacionada con su capacidad germinativa. La coloración mayor en las estriadas, intermedia en las marrones oscuras y menor en las marrones claras (Santos & Aguiar 2005). Asimismo, la proporción de germinación disminuye con el tiempo de almacenamiento (Medeiros & Zanon 1998), y a temperaturas alternas (20-30 ó 20-35 °C) la germinación es mayor que a temperaturas constantes (Santos & Aguiar 2000, 2005). Si bien hay registros de dormición en semillas de Euphorbiaceae (Baskin & Baskin 2001), hasta el momento se desconoce si esta especie presenta dormición.

En una gran diversidad de especies, la capacidad germinativa de las semillas y/o las condiciones ambientales óptimas para desencadenarla pueden variar entre sitios geográficos (Bevington 1986; Baskin & Baskin 2001; Fenner & Thompson 2005) como consecuencia de las situaciones ambientales en las que crecen las plantas madre (e.g., temperaturas y precipitaciones) (Roach & Wulff 1987). Incluso, esta variación suele presentarse entre árboles de una misma población (Fenner & Thompson 2005), un carácter que por lo general está asociado al tamaño de las semillas (Weis 1982; Roach & Wulff 1987; Chacon et al. 1998; Ashworth & Martí 2011) o a la altura o al diámetro de la planta madre (Venable 1992; Lortie & AARSE 1999; Sletvold 2002). La existencia de asociaciones entre fenotipo materno (e.g., altura) y calidad de semillas resulta útil para optimizar la recolección de semillas en poblaciones naturales. Por estos motivos es importante evaluar lo que sucede en poblaciones de Argentina, cercanas al extremo sur del límite de distribución de *S. commersoniana*, con el fin de proporcionar estrategias de reproducción local para su utilización en restauración ecológica.

El objetivo general de este trabajo consistió en evaluar patrones de germinación mediante experimentos que reprodujeran las diversas condiciones naturales a las que pueden estar expuestas las semillas en el Bosque Chaqueño Serrano de Córdoba, Argentina. En particular, esta región presenta un clima templado, con estacionalidad térmica e hídrica, con temperaturas mínima y máxima media anual de 5 °C y 20 °C, respectivamente. La precipitación media anual es de ~750 mm,

concentrada en los meses de verano, con algunas nevadas en invierno (Capitanelli 1979). Algunos estudios realizados en la región Chaqueña muestran que en la mayoría de las especies el proceso de germinación está regulado por la temperatura y, en menor medida, por la luz. Las mayores proporciones de germinación se registran en los rangos de temperaturas estivales (20-35 °C), que coinciden con el momento del año en el que se concentran las precipitaciones (Funes et al. 2009). En primer lugar, evaluamos el papel que tienen sobre la germinación y la viabilidad los factores coloración de las semillas, remoción de la carúncula, tiempo de almacenamiento, temperatura y tratamientos pre-germinativos de humedad y desinfección. En segundo lugar, analizamos la relación entre la altura de las plantas madre y el peso de las semillas con la capacidad germinativa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño de muestreo

El estudio fue realizado durante dos temporadas (2010 y 2011) en dos poblaciones de la provincia de Córdoba, seleccionadas aleatoriamente con el fin de abarcar una mayor variabilidad espacial (la distancia entre poblaciones es de ~14 km). En febrero de 2010, cuando ocurre la dispersión de las semillas, se recolectaron de forma aleatoria frutos maduros de distintas alturas y distintas ramas por planta, de ocho plantas madre de la población de Tanti (cercanas al arroyo Del Cosquín 31°21'55" S, 64°35'51" O; 870 m.s.n.m.) y de seis plantas madre de la población de Cuesta Blanca (cercanas al arroyo San Pablo 31°28'08" S y 64°31'08" W; 800 m.s.n.m.), a las cuales además se les midió la altura. En febrero de 2011 se recolectaron frutos maduros siguiendo la misma metodología descrita para el año 2010, de nueve plantas madre de la población de Tanti y seis de Cuesta Blanca. Las plantas madre de la segunda temporada no fueron las mismas de la primera ya que los árboles que tuvieron una fructificación abundante en 2010 casi no fructificaron en 2011. En ambas temporadas, las semillas de muchos de los frutos recolectados habían sido depredadas (daños externos) por pequeñas larvas, hecho que redundó en una reducida cantidad de semillas sanas disponibles para los experimentos, en especial en 2010. En todos los casos, las semillas depredadas fueron descartadas y las sanas almacenadas en bolsas de papel identificando la planta madre y guardadas en lugar fresco, seco y sin luz durante dos y cuatro meses hasta el comienzo de los experimentos.

Experimentos de germinación

Se realizaron cinco experimentos de germinación orientados a evaluar la importancia de 1) el color

de las semillas, 2) la remoción de la carúncula, 3) el tiempo de almacenamiento, 4) la temperatura y 5) tratamientos pre-germinativos de humedad y desinfección. Todos los experimentos se desarrollaron en cámaras bajo condiciones controladas de temperatura y fotoperíodo durante 30 días, y se hizo coincidir el período de luz con el de mayor temperatura. Las temperaturas fueron seleccionadas siguiendo tres criterios. Por un lado, especies de estadios sucesionales tempranos (pioneras) poseen semillas capaces de germinar en condiciones de temperatura elevada o a temperaturas fluctuantes (Bazzaz 1979). Por otro lado, nos basamos en el rango óptimo para *S. commersoniana* en Brasil (20-35 °C) (Santos & Aguiar 2005). Por último, consideramos que en el Bosque Chaqueño Serrano el rango óptimo de temperaturas para la germinación de las semillas puede variar entre especies nativas (Funes et al. 2009). En todos los experimentos se identificó y se mantuvo la identidad de la planta madre. Las semillas fueron colocadas en cápsulas de Petri con sustrato de algodón y papel de filtro, fueron regadas con agua corriente y se controlaron las germinaciones tres veces por semana según el criterio propuesto por ISTA 1996 (International Seed Testing Association), de emergencia en 2 mm de la radícula. La proporción de germinación (PG) se calculó como

$$PG = \left(\frac{\text{N}^\circ \text{ de semillas germinadas en 30 días}}{\text{N}^\circ \text{ de semillas sembradas}} \right) \times 100 \quad (1)$$

y la velocidad de germinación a partir del índice de velocidad de germinación (IVG) de Maguire (1962)

$$IVG = \Sigma n/t \quad (2)$$

donde: n es el número de semillas germinadas y t es el intervalo de tiempo en el cual **germinaron**.

Experimento 1: PG e IVG en función de la coloración de las semillas

Se usaron semillas de la temporada 2010, con dos meses de almacenamiento. De cada planta madre se tomó una muestra de 18 semillas de tegumento marrón oscuro y 18 de tegumento marrón claro. **Debido a la baja producción, las semillas estriadas no fueron consideradas en el estudio.** Las semillas fueron lavadas con una solución de hipoclorito de sodio al 2.0% durante 10 min y luego enjuagadas 2 min en agua corriente para evitar el desarrollo de hongos nocivos frecuentes en esta especie (Santos & Aguiar 2005). La temperatura de la cámara fue de 20-35 °C. Además, se utilizaron semillas frescas a las que se les realizaron cortes bajo microscopio estereoscópico a fin de determinar la presencia o ausencia de embrión y de endosperma.

Experimento 2: PG en función de la remoción de la carúncula

Se usaron semillas de tegumento marrón oscuro de la temporada 2011, con dos meses de

almacenamiento. Se tomaron dos muestras de 50 semillas por planta madre. Una de las muestras fue sometida a un tratamiento de remoción de la carúncula (se cortó esa estructura con un bisturí) y se dejó la micrópila expuesta (Mendes et al. 2009). En la otra muestra, la carúncula permaneció intacta. La temperatura de la cámara fue 15-25 °C.

Experimento 3: PG en función del tiempo de almacenamiento

Para evaluar el efecto del tiempo de almacenamiento sobre la viabilidad de las semillas se usaron semillas de tegumento marrón oscuro de la temporada 2011 con dos y cuatro meses de almacenamiento. El tiempo fue seleccionado en función de resultados previos para *S. commersoniana* en Brasil, donde la PG de semillas almacenadas por cuatro meses fue aproximadamente la mitad (20%) que la PG de semillas almacenadas por dos meses (40%) (Medeiros & Zanon 1998). Se tomaron dos muestras de 50 semillas por planta madre. Una de las muestras fue puesta a germinar a los dos meses de haber sido recolectadas, y la otra a los cuatro meses. La temperatura de la cámara fue 15-25 °C.

Experimento 4: PG en función de la temperatura

Se usaron semillas de tegumento marrón oscuro de la temporada 2011, con cuatro meses de almacenamiento. De cada planta madre se tomaron dos muestras de 50 semillas. Una de las muestras fue sometida a 15-25 °C y la otra a 20-35 °C.

Experimento 5: PG e IVG en función de tratamientos pre-germinativos de humedad y desinfección

Se usaron semillas de tegumento marrón oscuro de la temporada 2010, con dos meses de almacenamiento. Se realizaron tres tratamientos pre-germinativos de humedad y dos de desinfección, en un arreglo factorial de 3x2. Los tratamientos pre-germinativos de humedad se seleccionaron sobre la base de las condiciones microambientales a las que pueden estar expuestas las semillas en el Bosque Chaqueño Serrano. Tratamiento frío húmedo: se colocaron las semillas en cápsulas de Petri con sustrato de algodón y papel de filtro humedecidos con agua corriente y se llevaron a heladera (4 °C) por tres semanas para simular así las semillas que pasan el invierno en el suelo húmedo por su cercanía a los cursos de agua, o semillas que soportaron nevadas esporádicas. Hidratación: se colocaron las semillas en un recipiente con agua corriente a temperatura ambiente (22 °C) durante cuatro días para simular situaciones de lluvia o de alta humedad durante la temporada de dispersión. Control: las semillas no recibieron ningún tratamiento pre-germinativo. Estos tratamientos fueron combinados con dos

tratamientos de desinfección: desinfección con solución de hipoclorito de sodio al 2% (se siguió la metodología mencionada antes en el Experimento 1) y sin desinfección. De cada planta madre se tomaron seis muestras, cada una compuesta por 18 semillas previamente pesadas en balanza electrónica (Mettler Toledo PB153, 2 mg de precisión) para conocer el peso promedio de semillas individuales. Cada muestra de semillas fue asignada al azar a cada combinación de tratamiento pre-germinativo y desinfección, y se respetó que cada planta madre estuviese presente en todas las combinaciones. La temperatura de la cámara fue 20-35 °C.

Análisis de datos

El análisis estadístico de datos se realizó con el programa R (R Development Core Team 2011). Los análisis de los experimentos de germinación se realizaron de la siguiente manera. Experimento 1: se comparó PG e IVG entre semillas marrones oscuras y claras por medio de la prueba de Wilcoxon con muestras apareadas; el apareamiento se realizó por planta madre. Experimentos 2, 3, 4 y 5: se evaluó el efecto de los diferentes tratamientos por medio de modelos Lineales Generalizados Mixtos (GLMMs) con distribución binomial y normal de los errores para PG e IVG (sólo Experimento 5), respectivamente. Los tratamientos: remoción de carúncula, tiempo de almacenamiento, temperatura, tratamiento pre-germinativo y desinfección fueron considerados efectos fijos y el factor población y planta madre fueron considerados aleatorios. Para el análisis de los experimentos 2, 3 y 4 se utilizó la función lmer del paquete lme4 (Bates et al. 2011). La estructura espacial de los datos fue: tratamiento (N=2), efecto principal fijo, población efecto aleatorio (N=2). Para estos tres experimentos, la elección del modelo que mejor se ajustó a los datos fue determinada mediante comparación de modelos utilizando el criterio de Información de Akaike (AIC); de esta manera se evaluó la interacción entre el efecto fijo (tratamiento) y el efecto aleatorio (población) (Zuur et al. 2009), en tanto que la significancia de los efectos fijos se determinó con la prueba Wald-z. Dado que el factor población tuvo una contribución importante en el porcentaje de la varianza explicada en los modelos, a posteriori se evaluaron diferencias entre poblaciones mediante la prueba de Wilcoxon. Para el análisis del Experimento 5 se utilizó la función glmmPQL del paquete MASS (Venables & Ripley 2002) debido a la existencia de sobredispersión en los datos. La estructura espacial de los datos fue: tratamientos pre-germinativos de humedad (N=3) y desinfección (N=2) como efectos fijos, la interacción entre ambos y el factor planta madre fue considerado aleatorio y anidado dentro del factor aleatorio población. Considerando que la función glmmPQL no permite comparación entre modelos, la significancia de los efectos fijos e interacciones se evaluaron mediante la prueba

t y la contribución de los factores aleatorios (población y planta madre) en el modelo se obtuvo mediante análisis de componentes de varianza. Los parámetros de los modelos fueron estimados utilizando la aproximación de Laplace y máxima verosimilitud en el caso de la función lmer y glmmPQL, respectivamente.

Para evaluar la relación entre altura de las plantas madre y peso, PG e IVG promedio de las semillas se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson (se promediaron los valores de PG e IVG de todos los tratamientos pre-germinativos de humedad y desinfección para cada planta madre).

Para cumplir con el supuesto de normalidad, los datos de PG e IVG de la población de Cuesta Blanca fueron transformados a logaritmo ($X+0.1$) y a raíz cuadrada, respectivamente. En la población de Tanti no fue necesario hacer transformaciones. En las figuras se muestran los datos sin transformar.

RESULTADOS

La germinación de las semillas ocurrió entre los 2 y 26 días de ser colocadas en cámara. En relación a la coloración de las semillas, tanto la PG (8.73 ± 15.21 , promedio entre ambas poblaciones) como el IVG (0.24 ± 0.48 , promedio entre ambas poblaciones) de semillas marrones oscuras fue significativamente mayor que el de semillas marrones claras, ya que germinaron sólo las primeras (Wilcoxon: $W=2.23$, $N=32$, $P<0.05$). Las semillas marrones oscuras resultaron normales (presentaban embrión y endosperma) y las marrones claras estaban vacías (si bien presentaron el mismo tamaño que las marrones oscuras).

La PG de las semillas no fue afectada significativamente por el tratamiento de remoción de carúncula ($Z=0.68$, $P=0.50$), ni por el tiempo de almacenamiento (dos y cuatro meses, $Z=0.08$, $P=0.93$), ni por los

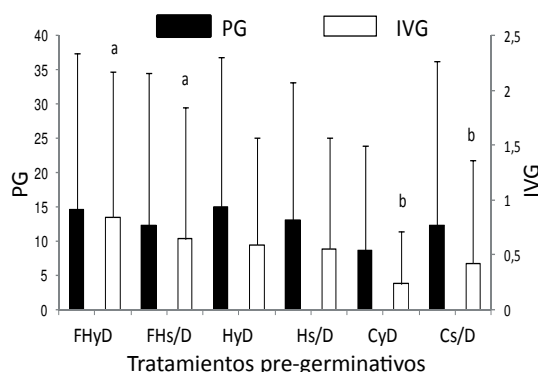


Figura 1. Proporción de germinación promedio (PG) e índice de velocidad de germinación promedio (IVG) de semillas marrones oscuras de *Sebastiania commersoniana* de la temporada 2010, provenientes de dos poblaciones, sujetas a tratamientos pre-germinativos y de desinfección. FHyD=frió húmedo y desinfección con NaOCl (hipoclorito de sodio), FHs/D=frió húmedo sin desinfección, HyD=hidratación y desinfección con NaOCl, Hs/D=hidratación sin desinfección, CyD=control y desinfección con NaOCl, Cs/D=control sin desinfección. Las barras verticales indican 1 desvío estándar. Letras minúsculas indican diferencias significativas.

Figure 1. Mean germination proportion (PG) and mean germination velocity index (IVG) of dark-brown seeds of *Sebastiania commersoniana*, corresponding to 2010 season, from two populations, subjected to pre-germinative and disinfection treatments. FHyD=cold wet and disinfection with NaOCl (sodium hypochlorite), FHs/D=cold wet without disinfection, HyD=hydration and disinfection with NaOCl, Hs/D=hydration without disinfection, CyD=control and disinfection with NaOCl, Cs/D=control without disinfection. Vertical bars indicate 1 standard deviation and lower case letters show significant differences.

tratamientos de temperatura (20-35 °C y 15-25 °C, $Z=0.14$, $P=0.89$) (Tabla 1). Asimismo, en estos tres experimentos la interacción entre tratamiento y población no fue significativa ($\chi^2 \leq 2.77$, $P \geq 0.25$). Por el contrario, en los tres experimentos la PG de la población de Tanti fue superior al de Cuesta Blanca ($W \geq 106$, $P \leq 0.03$) (Tabla 1).

Tabla 1. Proporción de germinación promedio (PG \pm DE) e índice de velocidad de germinación promedio (IVG \pm DE) de semillas marrones oscuras de *Sebastiania commersoniana* provenientes de las poblaciones de Tanti y Cuesta Blanca. Temporada 2010: promedios obtenidos a través de los tratamientos pre-germinativos de humedad y desinfección. Temporada 2011: tratamientos de remoción de carúncula, tiempo de almacenamiento y temperaturas.

Table 1. Mean germination proportion (PG \pm SD) and mean germination velocity index (IVG \pm SD) of dark-brown seeds of *Sebastiania commersoniana* from Tanti and Cuesta Blanca populations. Season 2010: average from pre-germinative moisture and disinfection treatments. Season 2011: caruncle removal, stored time and temperature treatments.

Población	Temporada					
	2010		2011			
	PG	IVG	PG		PG	
	Tratamientos pre-germinativos	Tratamientos pre-germinativos	2 meses almacenamiento	4 meses almacenamiento	Sin remoción carúncula	Sin remoción carúncula
			Remoción carúncula 15-25°C	Sin remoción carúncula 15-25°C	Sin remoción carúncula 15-25°C	Sin remoción carúncula 20-35°C
Tanti	21.88 \pm 22.76	0.92 \pm 1.12	70.22 \pm 14.85	64 \pm 22.76	64.86 \pm 18.76	68.57 \pm 20.09
C. Blanca	0.58 \pm 1.72	0.03 \pm 0.08	43 \pm 34.61	42 \pm 33.08	33.60 \pm 39.93	38.40 \pm 36.59

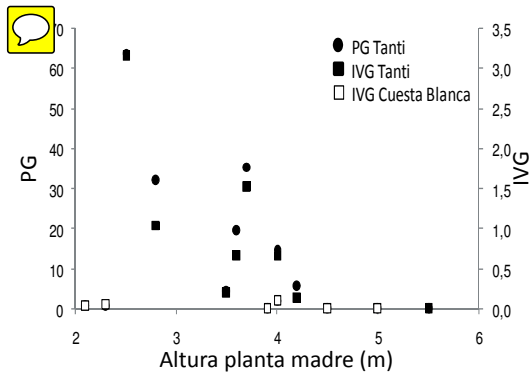


Figura 2. Correlación entre proporción de germinación promedio (PG), índice de velocidad de germinación promedio (IVG) y altura por planta madre, de semillas marrones oscuras de *Sebastiania commersoniana* (temporada 2010). Los valores de PG e IVG provienen del promedio de los diferentes tratamientos pre-germinativos de humedad y desinfección.

Figure 2. Correlation between mean seed germination proportion (PG), mean germination velocity index (IVG) and mother plant height of dark-brown seeds of *Sebastiania commersoniana* (2010 season). PG and IVG values come from the average of the pre-germinative moisture and disinfection treatments.

La PG no difirió significativamente entre tratamientos pre-germinativos de humedad ($t < 1.62$, $P > 0.11$), ni de desinfección ($t = 1.21$, $P = 0.23$) y tampoco se detectó interacción entre estos dos factores ($t < 1.41$, $P > 0.16$). El factor población explicó 3% de la varianza, mientras que el factor planta madre dentro de población explicó 15% (Figura 1). Los valores de PG entre plantas madre (independientemente de la población) variaron de 0 a 69%. En relación al IVG, se observaron diferencias significativas entre tratamientos pre-germinativos de humedad; el IVG en frío húmedo fue mayor que en el control ($t = 2.95$, $P = 0.005$) (Figura 1) y las diferencias entre control e hidratación y entre frío húmedo e hidratación no fueron significativas ($t < 1.93$, $P > 0.06$). La desinfección no tuvo un efecto significativo ($t = 0.47$, $P = 0.64$) y tampoco existió interacción entre

tratamientos pre-germinativos de humedad y desinfección ($t < -1.12$, $P > 0.27$). La proporción de la varianza explicada por la población fue 18%, en tanto que la proporción explicada por las plantas madre dentro de población fue 40%. Los valores de IVG entre plantas madre (independientemente de la población) variaron de 0 a 0.4.

El rango de altura de las plantas madre fue relativamente amplio, y la relación entre la altura y la PG e IVG varió entre poblaciones (Figura 2). En Tanti hubo una correlación negativa y significativa de la altura con la PG y el IVG, pero en Cuesta Blanca no fue

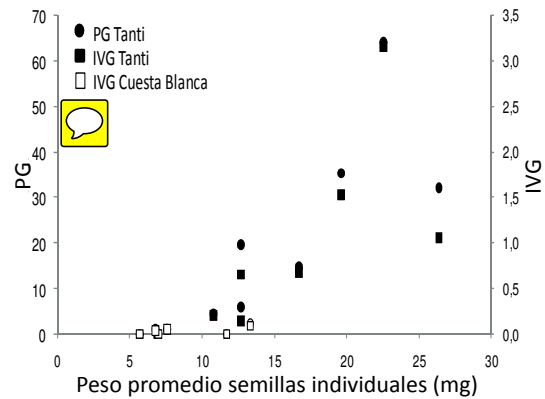


Figura 3. Correlación entre la proporción de germinación promedio (PG), índice de velocidad de germinación promedio (IVG) y peso promedio de semillas individuales marrones oscuras (mg) por planta madre, de *Sebastiania commersoniana* (temporada 2010). Los valores de PG e IVG provienen del promedio de los diferentes tratamientos pre-germinativos de humedad y desinfección, el peso promedio de semillas por planta madre fue obtenido de 6 repeticiones de 18 semillas cada una.

Figure 3. Correlation between mean seed germination proportion (PG), mean germination velocity index (IVG) and mean individual seed weight of dark-brown seeds (mg) per mother plant, of *Sebastiania commersoniana* (2010 season). PG and IVG values come from the average of the pre-germinative moisture and disinfection treatments, the mean weight of seeds per mother plant come from 6 replicates of 18 seeds each.

Tabla 2. Índices de correlación de Pearson entre la proporción de germinación promedio (PG), índice de velocidad de germinación promedio (IVG), peso promedio de semillas individuales por planta madre y altura de las plantas madre, de semillas marrones oscuras de *Sebastiania commersoniana*. Temporada 2010. Los valores por encima y por debajo de la diagonal corresponden a la población de Tanti y Cuesta Blanca, respectivamente.

	Peso	Altura	PG	IVG
Peso		$r = -0.71$; $P = 0.07$	$r = 0.75$; $P = 0.04$	$r = 0.76$; $P = 0.05$
Altura	$r = -0.12$; $P = 0.80$		$r = -0.79$; $P = 0.03$	$r = -0.81$; $P = 0.03$
PG	$r = 0.43$; $P = 0.33$	$r = -0.66$; $P = 0.11$		$r = 0.99$; $P < 0.0001$
IVG	$r = 0.63$; $P = 0.13$	$r = -0.37$; $P = 0.41$	$r = 0.93$; $P = 0.002$	

significativa (Tabla 2). Es decir, en Tanti, los árboles de menor altura produjeron semillas con mayor capacidad germinativa. Asimismo, en Tanti existió una correlación positiva y significativa entre el peso de las semillas y la PG e IVG de las plantas madre, mientras que en Cuesta Blanca no fue significativa (Figura 3, Tabla 2). En ninguna de las poblaciones, la altura de las plantas madre se correlacionó significativamente con el peso de las semillas, y en ambas poblaciones la PG se correlacionó positiva y significativamente con el IVG (Tabla 2).

DISCUSIÓN

La coloración de las semillas resultó ser un carácter importante para identificar en primera instancia semillas con potencial para germinar. Si bien esta diferencia en la PG entre semillas de diferentes coloraciones ya había sido detectada en poblaciones de Brasil, es interesante observar que en las poblaciones aquí estudiadas la PG de las semillas marrones claras fue cero, mientras que en poblaciones de Brasil fue 54.5% (Santos & Aguiar 2005). Considerando que las condiciones de germinación utilizadas en este estudio son comparables a las realizadas por Santos & Aguiar (2005) en Brasil, probablemente estas diferencias se deban a factores ecológicos y/o genéticos, pero no metodológicos. Santos & Aguiar (2005) proponen que las semillas marrones claras aún no han alcanzado el punto de maduración fisiológica. Sin embargo, en las poblaciones aquí estudiadas ese tipo de semillas, ya sea que provengan de frutos maduros aún en la planta o sean semillas ya dispersadas (LA, observación personal), están completamente vacías. Sobre la base de observaciones personales proponemos dos explicaciones alternativas para justificar la ausencia total de germinación de semillas marrones claras en estas poblaciones estudiadas: que sean abortivas o que hayan sufrido daño por insectos. Con frecuencia hemos observado insectos fitófagos (hemípteros) insertar su aparato bucal dentro de frutos verdes, grandes y bien desarrollados (TAVG y LA, observaciones personales). Boieiro et al. (2010) propusieron explicaciones similares a estas al encontrar que dos especies del género *Euphorbia* presentaban tanto semillas abortivas (caracterizadas externamente por coloración más clara que las viables) como semillas depredadas por hemípteros e himenópteros (reconocidas por presentar su interior vacío).


Futuros estudios en los que se controlen las limitaciones por polen, por recursos y la depredación por insectos en un número mayor de poblaciones permitirán arribar a explicaciones más certeras.

Las semillas de *S. commersoniana* germinan en una gran variedad de condiciones. Ninguno de los experimentos de germinación (i.e., remoción de carúncula, temperaturas, tiempo de almacenamiento, tratamientos pre-germinativos de humedad y desinfección) resultó ser más efectivo que otro en la PG. Curiosamente, algunos de los resultados aquí presentados difieren de los obtenidos para poblaciones de Brasil, donde se observó que las mayores proporciones de germinación se obtienen a una temperatura entre 20 y 35 °C (Santos & Aguiar 2005) y que con cuatro meses de almacenamiento la PG se reduce a la mitad (Medeiros & Zanon 1998).

Como se ha observado en muchas otras especies, existe un efecto materno (Roach & Wulff 1987) en la PG e IVG de las semillas de *S. commersoniana*. El hecho de que plantas madre que producen semillas más pesadas tengan mayor capacidad germinativa (al menos en la población de Tanti) puede deberse a que las semillas con más peso contienen mayor cantidad de reservas para el embrión en crecimiento y esto le permitiría germinar de forma más eficaz (Weis 1982). Pero sería importante considerar un mayor número de plantas, distribuidas en un mayor número de poblaciones, para obtener resultados más certeros respecto a la relación entre la capacidad germinativa, el peso de las semillas y la altura de las plantas.

Por otro lado, la capacidad germinativa de las semillas marrones oscuras ha mostrado gran variabilidad entre temporadas, poblaciones y plantas madre. Es interesante observar que aunque los distintos experimentos y plantas madre utilizadas en ambas temporadas no permitan hacer comparaciones estadísticas, la PG de las semillas de la temporada 2010 fue considerablemente menor en ambas poblaciones que la PG de la temporada 2011; estas diferencias fueron más marcadas para la población de Cuesta Blanca que para la de Tanti (Tabla 1). Si bien las plantas madre estudiadas en la primera temporada no son las mismas de la segunda, el hecho de haber seleccionado en ambas ocasiones aquellas que dieron frutos sugiere que las diferencias entre temporadas en la PG no estarían dadas por las plantas madre sino por variaciones climáticas

o ecológicas estacionales. Por ejemplo, modificaciones en la cantidad y calidad de polinización, en los niveles de herbivoría en las plantas madre y en los recursos disponibles para asignar a la semillas son factores que pueden afectar la calidad de las semillas y, por consiguiente, su capacidad germinativa (Roach & Wulff 1987; Herrera et al. 2002; Fenner & Thompson 2005).

La población sería un factor determinante en los niveles de germinación. Tanto en 2010 como en 2011, la PG obtenida para Tanti fue muy superior a la registrada para Cuesta Blanca (Tabla 1). Si bien en este estudio la población fue considerada un efecto aleatorio, algunas observaciones personales  permitirían hacer especulaciones sobre la densidad poblacional y la importancia de su futura consideración en estudios con esta especie. Las diferencias entre poblaciones podrían estar relacionadas con la densidad de individuos conespecíficos, que fue mayor en Cuesta Blanca que en Tanti (~1 individuo/m² y 0.1 individuo/m², respectivamente). Es posible que la mayor densidad poblacional en Cuesta Blanca genere condiciones de mayor competencia por recursos, y que eso se ponga en evidencia en el menor peso y capacidad germinativa de sus semillas. A su vez, dado que *S. commersoniana* es una especie con reproducción vegetativa (DR, observación personal), se podría pensar que en poblaciones de mayor densidad la polinización podría producirse entre plantas cercanas, idénticas genéticamente, lo que resultaría en semillas con niveles altos de endogamia, cuyos efectos negativos podrían manifestarse en la PG (Fenner & Thompson 2005). Para evaluar si la densidad poblacional es un factor importante en la calidad de las semillas de esta especie, en futuros estudios se debería aumentar el número de poblaciones, y seleccionar a priori repeticiones para los distintos niveles del factor densidad.

Si se tiene en cuenta el potencial de utilización de esta especie para reforestación y recuperación de hábitats degradados, es de gran utilidad conocer los aspectos aquí encontrados. Entre ellos se destaca la gran variación en germinación que existe entre semillas de diferentes coloraciones y pesos, temporadas, poblaciones y plantas madre. De esta manera, para optimizar la PG recomendamos recolectar semillas marrones oscuras de varias poblaciones para poder identificar poblaciones que produzcan semillas con mayor capacidad germinativa.

Finalmente, dado que los experimentos a los que fueron expuestas las semillas no difieren en sus PG, se recomienda utilizar el más sencillo (control sin hipoclorito y sin remoción de carúncula) a los fines de abaratar los costos, optimizar el tiempo y simplificar la producción, sin embargo, si el objetivo es acelerar la velocidad de germinación, se recomienda el tratamiento de frío húmedo.

AGRADECIMIENTOS: Agradecemos a G. Funes, A. Calviño, A. Ferreras y a dos revisores anónimos por sus importantes sugerencias. Esta investigación fue realizada con apoyo financiero otorgado por CONICET (PIP 0790). TA VG es egresada de la carrera de Biología de la FCEFN, UNC, y L A y D R son investigadores de CONICET.

BIBLIOGRAFÍA

- AGUILAR, R; L ASHWORTH; L GALETTO & MA AIZEN. 2006. Determinants of plant reproductive susceptibility to habitat fragmentation: review and synthesis through a meta-analysis. *Ecol. Lett.*, 9:968-980.
- AGUIRRE, A & R MENDOZA. 2009. Especies exóticas invasoras: impactos sobre las poblaciones de flora y fauna, los procesos ecológicos y la economía. Pp. 277-318 en: Acosta, JL; LM Bazaldúa; A Bolívar; S Bourquet; S Gutiérrez; A Huerta; E Huerta & E Monroy (eds.). *Capital natural de México: Estado de conservación y tendencias de cambio*. Vol. II. Conabio, Mexico. Pp. 818.
- AIZEN, MA; LA GARIBALDI & M DONDO. 2009. Expansión de la soja y diversidad de la agricultura argentina. *Ecol. Austral*, 19:45-54.
- ASHWORTH, L & L MARTÍ. 2011. Forest fragmentation and seed germination of native plant species from the Chaco Serrano Forest, Argentina. *Biotropica*, 43:496-503.
- BASKIN, CC & JM BASKIN 2001. *Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. Academic Press. San Diego, USA. Pp. 666.
- BATES, D; M MAECHLER & B BOLKER 2011. lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and Eigen. R package version 0.999375-42. CRAN.R-project.org/package=lme4
- BAZZAZ, FA. 1979. The Physiological Ecology of Plant Succession. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 10:351-371.
- BEVINGTON, J. 1986. Geographic differences in the seed germination of paper birch (*Betula papyrifera*). *Am. J. Bot.*, 73:564-573.
- BOEIRO, M; C REGO; ARM SERRANO & X ESPADALER. 2010. The impact of specialist and generalist pre-dispersal seed predators on the reproductive output of a common and a rare *Euphorbia* species. *Acta Oecol.*, 36:227-233.
- CABIDO, MR & M ZAK. 1999. *Vegetación del Norte de Córdoba*. Instituto Multidisciplinario Biología Vegetal. Universidad Nacional de Córdoba y CONICET. Córdoba, Argentina. Pp. 65.
- CAGNOLO, L; G VALLADARES; A SALVO; M CABIDO & M ZAK. 2009. Habitat fragmentation and species loss across three interacting trophic levels: effects of life-history and food-web traits. *Conserv. Biol.*, 23:1167-1175.
- CAPITANELLI, RG. 1979. Clima. Pp. 45-138 en: Vázquez, J; R Miatello & M Roqué (eds.). *Geografía Física de la provincia de Córdoba*. Ed. Boldt, Buenos Aires, Argentina. Pp. 463.
- CARVALHO, PER. 1994. *Sebastiania commersoniana* (Baillon) L.B. Smith & R.J. Downs. Pp. 481-483 en: Carvalho,

- PER (ed.). *Espécies orestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira*. Embrapa cnpf/spi. Brasília, Brasil. Pp. 639.
- CHACON, P; R BUSTAMANTE & C HENRIQUEZ. 1998. The effect of seed size on germination and seedling growth of *Cryptocarya alba* (Laureaceae) in Chile. *Rev. Chil. Hist. Nat.*, **71**:189-197.
- DEMAIO, P; UO KARLIN & M MEDINA. 2002. *Árboles nativos del centro de Argentina*. L.O.L.A. (Literature of Latin America). Buenos Aires, Argentina. Pp. 210.
- FENNER, M & K THOMPSON. 2005. *The ecology of seeds*. 2da edn. Cambridge University Press. Cambridge, UK. Pp. 250.
- FUNES, G; S DÍAZ & P VENIER. 2009. La temperatura como principal determinante de la germinación en especies del Chaco seco de Argentina. *Ecol. Austral*, **19**:129-138.
- GAVIER, G & E BUCHER. 2004. Deforestación de las Sierras Chicas de Córdoba (Argentina) en el período 1970-1997. *Boletín de la Academia Nacional de Ciencias*, Córdoba, Argentina, **101**:3-27.
- HERRERA, CM; M MEDRANO; PJ REY; AM SÁNCHEZ-LAFUENTE; MB GARCÍA; ET AL. 2002. Interaction of pollinators and herbivores on plant fitness suggests a pathway for correlated evolution of mutualism -and antagonism-related traits. *Ecology*, **99**:16823-16828.
- HOYOS, L; GI GAVIER; T KUEMMERLE; EH BUCHER; VC RADELOFF; ET AL. 2010. Invasion of glossy privet (*Ligustrum lucidum*) and native forest loss in the Sierras Chicas of Córdoba, Argentina. *Biol. Invasions*, **12**:3261-3275.
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. 1996. *International Rules for Seed Testing*. Rules Zürich, Switzerland. Pp. 335.
- LAMB, D & D GILMOUR. 2003. *Rehabilitation and Restoration of Degraded Forests*. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK and WWF, Gland, Switzerland. Pp. 110.
- LOBSTEIN MB & LL ROCKWOOD. 1993. Influence of elaiosome removal on germination in five ant-dispersed plant species. *Va. J. Sci.*, **44**:59-72.
- LONGHI, RA. 1995. Branquillo. Pp. 29-30 en: RA Longhi (ed.). *Livro das árvores: árvores e arvores do sul*. 2da ed. L&PM. Porto Alegre, Brasil. Pp. 174.
- LORTIE, CJ & LW AARSSSEN. 1999. The advantage of being tall: Higher flowers receive more pollen in *Verbascum thapsus* L. (Scrophulariaceae). *Ecoscience*, **6**:68-71.
- MAGUIRE, JD. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Sci.*, **2**:176-177.
- MEDEIROS, AC & A ZANON. 1998. Conservação de sementes de branquillo (*Sebastiania commersoniana* (Baillon) LB Smith & RJ Down) e de pinheiro-bravo (*Podocarpus lambertii* Klotzch ex Endl.), armazenadas em diferentes ambientes. *Bol. Pesq. Fl.*, Colombo, **36**:57-69.
- MENDES, RC; DC FERNANDES-SANTOS DIAS; M DIAS-PEREIRA & PG BERGER. 2009. Tratamentos pré-germinativos em sementes de mamona (*Ricinus communis*). *Rev. Bras. Sementes*, **31**:187-194.
- PIAGGIO, M & L DELFINO. 2009. Florística y fitosociología de un bosque fluvial en Minas de Corrales, Rivera, Uruguay. *Iheringia*, **64**:45-51.
- PIMENTA, JA; E BIANCHINI & ME MEDRI. 1998. Adaptations to flooding by tropical trees: morphological and anatomical modifications. *Oecol. Bras.*, **4**:157-176.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. 2011. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. www.R-project.org.
- ROACH, DA & RD WULFF. 1987. Maternal Effects in Plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, **18**:209-235.
- SANTOS, SRG & IB AGUIAR. 2000. Germinação de sementes de branquillo (*Sebastiania commersoniana* (Baill.) Smith & Downs) em função do substrato e do regime de temperatura. *Rev. Bras. Sementes*, **22**:120-126.
- SANTOS, SRG & IB AGUIAR. 2005. Efeito da temperatura na germinação de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Baillon) Smith & Downs separadas pela coloração do tegumento. *Sci. For.*, **69**:77-83.
- SLETVOLD, N. 2002. Effects of plant size on reproductive output and offspring performance in the facultative biennial *Digitalis purpurea*. *J. Ecol.*, **90**:958-966.
- TECCO, PA; DE GURVICH; S DÍAZ; N PÉREZ-HARGUINDEGUY & M CABIDO. 2006. Positive interaction between invasive plants: The influence of *Pyracantha angustifolia* on the recruitment of native and exotic woody species. *Austral Ecol.*, **31**:293-300.
- VENABLE, LD. 1992. Size-number trade-offs and the variation of seed size with plant resources status. *Am. Nat.*, **140**:287-304.
- Venables, WN & BD Ripley. 2002. *Modern applied statistics with S*. Fourth Edition. Springer, New York.
- WEIS, MI. 1982. The effects of propagule size on germination and seedling growth in *Mirabilis hirsuta*. *Can. J. Bot.*, **60**:1868-1874.
- ZAK, MR; M CABIDO & JG HODGSON. 2004. Do subtropical seasonal forests in the Gran Chaco, Argentina, have a future? *Biol. Conserv.*, **120**:589-598.
- ZULOAGA, FO & O MORRONE. 1999. *Catálogo de las plantas vasculares de la Republica Argentina II*. Missouri of the Botanical Garden Ress. USA. Pp. 618.
- ZUUR, AF; EN IENO; NJ WALKER; AA SAVELIEV & GM SMITH. 2009. *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. Springer, New York.