

# EFECTO DE LA TESTA SOBRE LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *Handroanthus heptaphyllus* TRAS DISTINTOS TIEMPOS DE ALMACENAMIENTO.

*Effect of the seed coat on Handroanthus heptaphyllus germination after different storage times.*

DUARTE E.<sup>1</sup>; AVICO E.<sup>1</sup>; SANSBERRO P.<sup>1,2</sup>; LUNA C.<sup>1,2</sup> *ex-aequo*

<sup>1</sup> Instituto de Botánica del Nordeste-CONICET.

CC N° 209. Corrientes, Argentina.

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias Agrarias - Universidad Nacional del Nordeste

Sgt. Cabral 2131 W3402BKG, Corrientes, Argentina.

cluna@agr.unne.edu.ar; claudiaverluna@gmail.com

## Resumen

Debido a que *Handroanthus heptaphyllus* (Lapacho rosado) no se reproduce con facilidad naturalmente por pérdida de la capacidad germinativa de sus semillas a corto tiempo, ha sido estudiado el efecto de la presencia de la testa sobre dicho parámetro luego de un lapso de almacenamiento prolongado. Las semillas cosechadas fueron almacenadas en cámara fría a 4°C durante 1, 6, 12 y 24 meses. Al evaluar los porcentajes de germinación de las semillas con testa, se obtuvo un 100% en aquellas que fueron almacenadas durante 1 mes, mientras que a mayor tiempo de almacenaje la misma descendió hasta hacerse nula a los 24 meses. Sobre las semillas con mayor tiempo de almacenamiento se ensayó la prueba topográfica por Tetrazolio para evaluar la viabilidad del lote, resultando el 100% viables; en las pruebas de germinación estandarizada este lote no registró germinación alguna, mientras que en la germinación *in vitro* con previa remoción de la testa antes de ser sembrada los indicadores indirectos de vigor evaluados, índice de velocidad de germinación (IVG) y tiempo medio de germinación (TMG) registraron valores de 3,43±0,92 días y 3,34±0,61 semillas/día, respectivamente. Por ello este trabajo demuestra que existe una relación entre la presencia de la testa y los bajos valores de germinación registrada; y que con solo la remoción de la misma podría aumentarse la disponibilidad de plántulas germinadas. Además se ha logrado generar información acerca de la conservación de semillas de esta especie.

**Palabras claves:** lapacho rosado, germinación, viabilidad.

## Introducción

*Handroanthus heptaphyllus* (lapacho rosado) pertenece a la familia Bignoniaceae. Es una especie que muestra preferencia por hábitats higrófilos a mesohigrófilos (Justiniano *et al.* 2000), de crecimiento lento y longeva (Tortorelli, 1956). Naturalmente se la encuentra en zonas de selvas tropicales (Mori *et al.*, 2012); es una especie representativa del bosque semidecíduo estacional de la Mata Atlántica (Ramos *et al.*, 2008).

En Argentina se distribuye en el Este de las provincias de Formosa y Chaco, Noreste de Santa Fe y Entre Ríos, y gran parte de Corrientes y Misiones, asociada a áreas fluviales (Lozano & Zapater, 2008; Zapater *et al.*, 2009).

Esta especie se ha convertido en una de las más populares por varias cuestiones ambientales y económicas; como ser el lapachol obtenido de la corteza, que la ha posicionado en un nuevo mercado, siendo una alternativa prometedora como herramienta terapéutica para el control de termitas, en dosis adecuadas, por

## Summary

*Handroanthus heptaphyllus* (Pink lapacho) is not easily reproduced in natural environments due to the loss of the germination capacity of its seeds after short storage periods. The aim of this work was to study the effect of the presence of the seed coat on the germination capacity of *H. heptaphyllus* seeds after prolonged storage. Seeds were stored in a cold chamber at 4°C for 1, 6, 12 and 24 months. The germination percentage for seeds with seed coats was 100% for the 1-month storage period; this percentage lowered under longer periods of storage, reaching 0% for the 24-month period. The viability of seeds stored for 24 months evaluated with Topographical Tetrazolium tests was 100%; however, no seed in this batch germinated with the standard germination tests. For the *in vitro* germination tests, the Germination Velocity Index (GVI) and the Average Period of Germination (APG) of seeds with their seed coats previously removed were 3.43±0.92 days and 3.34±0.92 seeds/day respectively. This study has shown that there is a relation between the low viability recorded and the presence of the seed coat, and that its removal alone could increase the availability of germinated seedlings. Furthermore, it has generated information about seed conservation of this species.

**Keywords:** pink lapacho, germination, viability.

sus efectos repelente y termicida (Arcos-Roa *et al.*, 2007; Martínez *et al.*, 2012). Se utiliza ampliamente en medicina por sus propiedades antitumorales y antiinflamatorias (Alonso, 2000). Por las características xilotecnológicas, es muy atractiva para la industria de muebles de calidad y posee un alto valor maderero (Paula & Alves, 1997). Es así que ha despertado el interés de muchas empresas del sector, sobre todo en Brasil y; como consecuencia, su explotación ha llevado a una fuerte pérdida del recurso natural. También es utilizada como planta ornamental y para la restauración de bosques de ribera, porque se desarrolla bien en suelos adyacentes a cursos de agua (Moreira & Souza, 1987).

Si bien esta especie se propaga comúnmente por semilla, presenta el inconveniente de que durante su almacenamiento presentan variaciones en términos de calidad, teniendo un poder germinativo que rápidamente se ve reducido (Carvalho, 1994); Maeda y Matthes (1984) han encontrado una merma del 47% en la germinación después de 120 días de la cosecha. En condiciones de

invernadero con los cuidados del caso e inmediatamente después de cosechadas las semillas, se alcanzan porcentajes de germinación del 80-90 % (Zapater *et al.*, 2006) mientras que en condiciones *in vitro* no supera el 50 % (Higa, 2006). El estudio de la conservación y almacenamiento de semillas de Lapacho se hace necesario para un desarrollo adecuado y permanente de proyectos productivos en los que este insumo no sea limitante.

Sus semillas se clasifican como ortodoxas, no toleran largos períodos de almacenamiento a menos que sean conservadas en cámara fría/seca (Brack *et al.*, 2011); por lo que algunos autores sugieren que se comportaría como xerofóbicas, ya que pierden su viabilidad por deshidratación producida por el medio donde se encuentren, sea éste de almacenamiento o natural (Vieira *et al.*, 1994) y además que la germinación reducida se debería a una

acción inhibitoria de los compuestos fenólicos presentes en el tegumento seminal y semilla (Silva Gilli Martins, 2012). El efecto de las testas en las semillas puede ser químico; por la presencia de inhibidores fenólicos (Selle *et al.*, 1983) o mecánico; impidiendo el flujo necesario de agua y oxígeno para la germinación (Kelly *et al.*, 1992).

Debido a que *H. heptaphyllus* no se reproduce con facilidad naturalmente por pérdida de la capacidad germinativa de sus semillas a corto tiempo, se estudió el efecto de la presencia de la testa sobre dicho parámetro luego de un lapso de almacenamiento prolongado; mediante la germinación convencional e *in vitro* y la Prueba Topográfica por Tetrazolio para evaluar viabilidad de las semillas.

## Materiales y Métodos

### Material vegetal

Las semillas utilizadas fueron cosechadas en la Reserva de Uso Múltiple (26°54'-59'S y 54°12'-18' W) de la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Nacional de Misiones, localizada en el Departamento Guaraní - Misiones, en el mes de Noviembre de 2011 y luego almacenadas en bolsas de polietileno en heladera a 4°C (durante) hasta realizar el ensayo, que se llevó a cabo en el laboratorio del IBONE-CONICET/Facultad de Ciencias Agrarias- UNNE, Corrientes.

**Almacenamiento de las semillas** Las semillas cosechadas fueron almacenadas en cámara fría a 4°C durante 1, 6, 12 y 24 meses, en bolsas de polietileno transparente de 30cm x 30cm.

**Prueba de germinación estandarizada:** Al momento de comenzar los ensayos de germinación las semillas contaban con un tenor de humedad promedio del 11%; determinado por el método de estufa a 105 ± 2 °C por 24 h (BRASIL, 2009), fueron realizadas 4 repeticiones de 1 g de semillas cada una. Se utilizaron cajas de Petri (una por repetición) con papel filtro (absorbente) y 10 mL de agua bidestilada, realizándose 4 repeticiones de 25 semillas cada una; el nivel de hidratación se mantuvo constante adicionando agua cuando se lo requería. La incubación se realizó en una cámara de incubación a 25 ± 2 °C (ISTA, 1999). El conteo de semillas germinadas se realizó diariamente hasta que la germinación se detuvo. Se consideraron germinadas cuando la radícula alcanzó 2 mm de largo (Labouriau 1983).

Se determinó:

**Porcentaje de germinación (PG):** con base en las plántulas con raíz, hipocótilo y epicótilo bien desarrollados, sanas y sin malformaciones (plántulas normales) cada 7 días de iniciada la prueba y hasta estabilizarse la germinación (ISTA, 1999). Se calculó mediante la fórmula:

$$PG(\%) = \frac{\text{Semillas germinadas}}{\text{Semillas puestas a germinar}} * 100$$

**Prueba Topográfica por Tetrazolio en semillas almacenadas por 24 meses:** La evaluación de la calidad de las semillas almacenadas durante 24 meses se realizó a través de Prueba Topográfica por Tetrazolio que se basa en un cambio de coloración de los tejidos vivos en presencia de una solución de la sal de cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio.

Las semillas fueron pre-acondicionadas en inmersión en agua durante 24 hs a 27 °C. Transcurrido ese tiempo se retiró el tegumento de las semillas y fueron colocadas en frascos ámbar,

siendo totalmente inmersas en una solución de tetrazolio (pH 6,5) al 0,5% según la metodología propuesta por de Oliveira *et al.*, (2005) para *Tabebuia serratifolia* mantenidos en oscuridad a 36 °C, por 24 hs., y una solución de Tetrazolio al 1% durante 48 hs en oscuridad a 37 °C. Una vez completado el tiempo de incubación para la tinción, las semillas fueron lavadas con abundante agua corriente y se dejaron inmersas en agua hasta el momento de evaluación sobre cada semilla individualmente. Se trabajó con 4 repeticiones de 25 semillas.

Los resultados se expresaron en % según las Categorías para la prueba de Tetrazolio propuestas por Caravita Abbade y Takaki (2014) para *Tabebuia roseoalba* (Figura 1).



**Figura 1:** Categorías para la prueba de tetrazolio propuestas por Caravita Abbade y Takaki (2014): Viable: 1 - embrión con color rosado o más oscuro y tejidos normales con apariencia firme; 2 - Otras regiones con color rosado o más oscuro y los tejidos firmes (eje intacto); 3 - menos de 50% de cotiledones descoloridos, no afecta a la región relacionada con el eje embrionario; Inviabile: 4 - Más de 50% de blanqueada o cotiledones de color negro, o no afecta a la región de unión con el eje embrionario; 5 - embrión con tinción negro; y 6 - embrión completamente descolorido, con tejidos flácidos.

**Prueba de germinación *in vitro* en semillas almacenadas por 24 meses:** Para llevar a cabo esta prueba se utilizó el protocolo de establecimiento de semillas de *H. heptaphyllus* propuesto por Duarte y colaboradores (2013), donde las simientes fueron desprovistas de la testa para ser desinfectadas por inmersión en una solución de etanol (70%) durante 1 min, y luego transferidas a una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) 15% durante 15 minutos, una vez finalizado el tratamiento de desinfección, las semillas fueron enjuagadas tres veces con agua destilada estéril. Para la siembra se utilizó un medio basal compuesto de las sales minerales y vitaminas de Murashige y Skoog (1962), reducida a la mitad de su concentración original (½MS), semisólido (agar 0.65%), con una concentración de sacarosa de 30 gr·L<sup>-1</sup>. Los cultivos fueron incubados durante 7 días en condiciones de luz (116 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, PAR, fotoperiodo 14 hs.) y temperatura (27±2 °C) controladas.

**Cálculo de vigor a partir de germinación *in vitro* de semillas:** Al finalizar el experimento se determinó, número de semillas germinadas y algunos indicadores indirectos de vigor tales como, tiempo medio de germinación en días (TMG) e índice de velocidad de germinación (IVG), registrándose diariamente durante 7 días.

Para calcular el índice de velocidad de germinación, se empleó la siguiente fórmula (Maguire, 1962):

$$IVG = \sum_{n-1}^n \frac{Gi}{Ni}$$

Donde  $G_i$  representa el número de semillas germinadas por día y  $N_i$  número de días transcurridos desde el inicio del ensayo.

## Resultados y Discusión

### Ensayo de germinación con semillas almacenadas por diferentes periodos de tiempo

#### Prueba de germinación estandarizada

Fuentes corroboran el efecto negativo del tiempo de almacenamiento particularmente en semillas recalcitrantes de distintas especies (Hernández 2000, Rojas *et al.*, 2000, Mora *et al.*, 2003). Dicha declinación en la germinación obedece a la reducción del contenido de humedad en la semilla conforme pasen más tiempo en almacenamiento (Carpenter & Ostmark 1994; Vázquez *et al.*, 1999; Rodríguez *et al.*, 2000).

En esta experiencia las semillas de *H. heptaphyllus* conservadas a 4°C han registrado un 100% de germinación a los 30 días de la cosecha; perdiendo su capacidad germinativa conforme el tiempo de almacenamiento transcurrió, llegando a hacerse nula a los 24 meses de almacenamiento (Tabla 1; Figura 2), aun manteniéndolas a baja temperatura. Existen antecedentes en el género como el de Cabezas (1995) quien reportó resultados en un congéneres como lo es *Tabebuia rosea*, donde se obtuvo 100% de germinación inmediatamente después de la cosecha de semillas almacenadas a temperatura ambiente; mientras que a los 30 días posteriores ya se registraba una merma en la respuesta a la germinación siendo ésta de solo el 10%, lo que indica que bajo condiciones naturales de almacenamiento la capacidad germinativa se conserva por periodos muy cortos. Es un hecho que la temperatura del ambiente de almacenamiento es un factor crítico que requiere cuidadosa atención.

Cuanto más baja sea la temperatura, durante más tiempo podrán ser almacenadas las semillas sin problemas (FAO, 2011); aunque en el caso de la especie en estudio la temperatura de almacenamiento que se manejó no prolongó la capacidad germinativa.

**Tabla 1:** Porcentajes de germinación (PG) de semillas enteras (con testa) almacenadas por diferentes periodos de tiempo. Los valores expresan el promedio de 4 réplicas de 25 semillas  $\pm$  SD (n= 100).

Tiempo de almacenamiento (Meses)	PG (%)
1	100 $\pm$ 0 <sup>a</sup>
6	83,33 $\pm$ 20,79 <sup>b</sup>
12	75,40 $\pm$ 9,05 <sup>c</sup>
24	0 $\pm$ 0 <sup>d</sup>

El tiempo medio de germinación busca medir la velocidad y dispersión de la germinación a través de la expresión (Nakagawa, 1999):

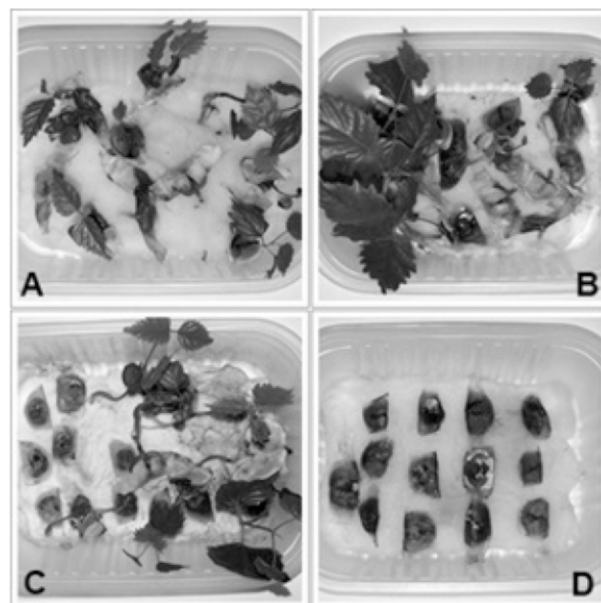
$$TMG = \frac{\sum Ci * Ti}{\sum Ci}$$

Donde  $C_i$  representa el número de semillas germinadas por día y  $T_i$  número de días transcurridos desde el inicio del ensayo en que germinan  $C_i$  semillas.

#### Diseño y análisis estadístico

Los datos de germinación se sometieron a análisis de variancia y al test de comparaciones múltiples de Tukey ( $P \leq 0,05$ ), para determinar el grado de significancia por medio del software INFOSTAT (2012).

**Figura 2:** Prueba de germinación estandarizada de las semillas de *H. heptaphyllus* almacenadas durante 1 (A), 6 (B), 12 (C) y 24 (D) meses.



En *Handroanthus albus* la germinación de las semillas fue favorecida por periodos de almacenamiento de tres a seis meses con valores de 88% y 84%, respectivamente. Mientras que el porcentaje de germinación de semillas recién cosechadas fue del 72% y tuvo un aumento durante los seis primeros meses de almacenamiento, pero a partir de este punto se observó una reducción gradual en la germinación, alcanzando el 18% a los 12 meses (Shibata *et al.*, 2012). Cambios en el porcentaje de germinación ya han sido encontrados por otros autores para diferentes especies dentro del mismo género. Kano *et al.*, (1978) han observado que la germinación de las semillas de *Tabebuia chrysotricha* después de 15 días de almacenamiento bajo condiciones de cámara seca, tiene una disminución del porcentaje de germinación del 78 % al 63 % en 30 días, y mientras que de nuevo aumentaron a 85 % en 63 días para las semillas de *Tabebuia impetiginosa*; Mello y Eira (1995) han observado un aumento del 15% en la germinación de las semillas almacenadas durante 18 meses a -29 ° C.

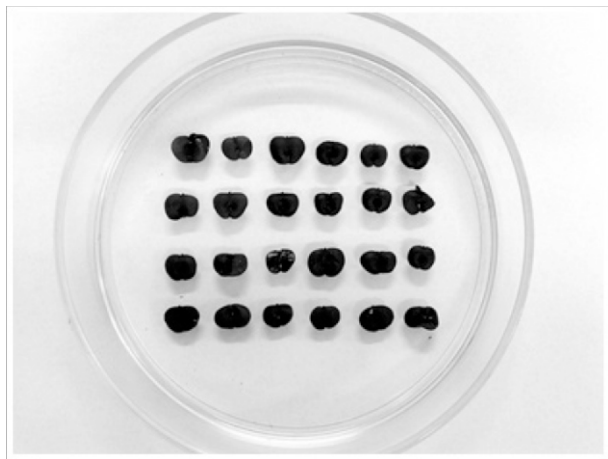
**Prueba Topográfica por Tetrazolio en semillas almacenadas por 24 meses**

Las pruebas de germinación muestran dificultades a la hora de aplicarlas en semillas de especies con fuerte letargo, como ser las de especies leñosas. La alternativa a estos ensayos de germinación la ofrece la Prueba Topográfica por Tetrazolio, que se encuentra bien desarrollada por el International Seed Testing Association; es un hecho también que muchas especies de árboles y arbustos no se encuentran bien reflejadas en estas normas, o incluso ni aparecen, como ocurre con muchas de nuestra flora (Savonen, 1999; Steiner *et al.*, 1999). Para la evaluación de la prueba de Tetrazolio, se tomó como referencia las categorías de semillas viables y no viables propuestas por Caravita Abbade y Takaki (2014) para un congénere de la especie en estudio; en nuestro caso se encontraron las tres primeras categorías de 1 a 3 (Tabla 2); por ende el 100% de las semillas almacenadas durante 24 meses fueron viables según esta clasificación (Figura 3).

**Tabla 2:** Porcentajes de viabilidad mediante la prueba topográfica de tetrazolio de semillas almacenadas durante 24 meses desprovistas de testa. Los valores expresan el promedio de 4 réplicas de 25 semillas  $\pm$  SD (n= 100).

Clasificación	%	Categorías		
		1	2	3
Semillas viables	100	88,00 $\pm$ 2,65	8,33 $\pm$ 0,58	3,66 $\pm$ 1,15
Semillas no viables	0	-	-	-

**Figura 3:** Tinción de las semillas de *H. heptaphyllus* almacenadas durante 24 meses con la Prueba Topográfica por Tetrazolio.



Maeda y Mathes (1984), han investigado acerca de la viabilidad en semillas de *Tabebuia chrysotricha*, *avellanadae*, *impetiginosa*, *rosea* y *heptaphylla*; encontrando diferencias en las tasas de germinación; reportando además que la viabilidad de las semillas de este género se prolonga cuando se conserva en envases de vidrio hermético o en bolsas de papel, haciendo hincapié en que las semillas almacenadas a temperatura ambiente han tenido menor longevidad. Cabral *et al.*, (2003) por su parte ha obtenido mayores tasas de germinación (superiores al 80%) en semillas de hasta 120 días de cosechadas, probablemente debido al hecho de que se almacenan en cámara fría y sin humedad.

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 1999, Moreno-Álvarez *et al.*, 2001); posi-

blemente la mayor dificultad es encontrar un protocolo adaptado, de forma que las tinciones sean lo suficientemente homogéneas para asegurar una buena interpretación de los resultados, que en ocasiones se ven 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*, *Glicida sepium* y *Delonix regia* (Pivaral Leiva, 1999), *Pinus pinea* (Benito-Matías, 2004); *Schinopsis balansae* (Alzugaray *et al.*, 2005); *Acacia melanoxylon* (Velásquez, 2006); *Aspidosperma quebracho-blanco* (Alzugaray *et al.*, 2006); *Rubia fruticosa* (Marrero *et al.*, 2007); *Maytenus vitis-idaea* (Bueno *et al.*, 2009) entre otras; para la especie en estudio no existen reportes acerca de su uso.

**Germinación *in vitro* de semillas con 24 meses de almacenamiento**

Para romper la latencia y lograr mayor germinación, en muchas especies se recomienda la escarificación manual que ofrece un método confiable de tratamiento con el que se puede lograr un alto porcentaje de germinación, y que puede incluir la remoción de la testa, del opérculo o la extracción del embrión (Baskin & Baskin 2004). En la germinación *in vitro* de estas semillas se ha logrado porcentajes de germinación de un 100% (Tabla 3), y sólo con la remoción de la testa, previa a su desinfección para luego incubarla, se ha mejorado el proceso en cuestión.

Después de la cosecha, generalmente durante el almacenamiento, las semillas pueden presentar cambios fisiológicos tales como formación de compuestos químicos y modificaciones en proteínas almacenadas en la semilla. Estas reservas acumuladas son responsables de las funciones vitales de las semillas, además de afectar directamente su potencial de almacenamiento (Shibata *et al.*, 2012). Por ello las variaciones en las respuestas de germinación de semillas pueden deberse, entre otros factores, a la dormición o a reacciones fisiológicas y/o bioquímicas (Chunji *et al.*, 2002; Mycock & Berjak, 1995). Pero también existen reportes de la presencia de compuestos fenólicos en el tegumento de las semillas (floridizim, ácido salicílico, ácido clorogénico y cumarina) que pueden actuar como inhibidores de la germinación por consumir oxígeno durante el proceso de oxidación (Bewley & Black, 1994). Moreira de Carvalho *et al.*, (2008) reportaron para el género *Handroanthus* (ex *Tabebuia*), que contenidos altos de polifenoles resultan en una baja germinación de las semillas. Por lo tanto, las semillas pueden mostrar cambios fisiológicos y bioquímicos, derivados de las condiciones a las que fueron sometidas durante el almacenamiento, tales como humedad, temperatura de conservación, tiempo de almacenamiento y recipientes en los que se almacena.

Queda demostrado así que la eliminación de la testa puede favorecer la germinación; probablemente debido a que en ella se encuentran concentrados inhibidores (compuestos fenólicos) (Bewley & Black, 1994; Silva Gilli Martins, 2012). Oliveira (2004) observó que sometiendo a las semillas de este género al envejecimiento artificial se podría reducir el contenido de fenoles y aumentar la germinación. Las pruebas de envejecimiento acelerado o artificial son reconocidas para evaluar el vigor de semillas de diversas especies, siendo capaz de proporcionar información con un alto grado de consistencia (Tekrony, 1995). Tiene como principio una aceleración artificial de la tasa de deterioro de semillas a través de la exposición a niveles elevados de temperatura y humedad relativa, considerando estos factores ambientales preponderantes en la intensidad y velocidad del deterioro (Filho, 1999). Bajo esas condiciones, semillas de baja

calidad se deterioran más rápidamente que las más vigorosas, presentando una reducción significativa de la viabilidad.

En cuanto al análisis de los parámetros de vigor, se logró registrar un TMG a los  $3,43 \pm 0,92$  días y un IVG de  $3,34 \pm 0,61$  semillas/día (Tabla 3); para la especie existen reportes de IVG de 1,27 (Higa, 2006) a 6,7 semillas/día (Anghiononi Bocchese, 2008) para germinación convencional; mientras que para germinación *in vitro* el IVG es de 1,80 semillas/día (Higa, 2006), mejorando así los antecedentes bibliográficos para la especie en estudio; en tanto que para TMG no existen referencias para poder discutir los resultados obtenidos.

## Conclusiones

En el presente trabajo se ha logrado un 100% de germinación de semillas de *H. heptaphyllus*, con 24 meses de almacenamiento, previa remoción de la testa por el método *in vitro*; lo que ha permitido aumentar la disponibilidad de plántulas germinadas; de la misma forma se ha generado información acerca de que la presencia de la testa probablemente sea la responsable de su baja regeneración en condiciones naturales, por pérdida de la capaci-

**Tabla 3:** Germinación y vigor expresado como tiempo medio de germinación en días (TMG) e índice de velocidad de germinación (IVG) de semillas almacenadas durante 24 meses desprovistas de tegumento seminal. Los valores expresan el promedio de 4 réplicas de 25 semillas  $\pm$  SD (n= 100).

	Germinación (%)	TMG	IVG
Germinación <i>in vitro</i>	100	$3,43 \pm 0,92$	$3,34 \pm 0,61$

dad germinativa en sus semillas; ya que en los ensayos de germinación estandarizada del mismo lote sin la remoción la testa, el porcentaje de la misma fue nulo aun cuando registraron una elevada viabilidad; cabe destacar que los resultados obtenidos en este estudio son preliminares ya que son necesarios continuar con mayores estudios.

## Agradecimientos

La ejecución de este trabajo fue posible gracias al apoyo de los siguientes proyectos PICTO-2011-0213 (ANPCyT-UNNE), PI A014/11 (SGCyT-UNNE) y PIA005/12 (SGCyT-UNNE).

## Bibliografía

- ALONSO J (2000) El lapacho. Revista de Fitoterapia 1(2): 107-117.
- ALZUGARAY C, CARNEVALE NJ, SALINAS AR, PIOLI R (2005) Observations on Seed Quality of *Schinopsis balansae* Engl., a Tree Species Endemic to South America. Seed Technology. 27 (1): 49-58.
- ALZUGARAY C, CARNEVALE NJ, SALINAS AR, PIOLI R (2006) Calidad de semillas de *Aspidosperma quebracho-blanco* Schlecht. Quebracho (Santiago del Estero) n.13 Santiago del Estero 2006.
- ANGHIONONI BOCCHESE R, MORBECK DE OLIVEIRA A, MELOTTO A, FERNANDES V, LAURA V (2008) Efeito de diferentes tipos de solos na germinação de sementes de *Tabebuia heptaphylla*, em casa telada. CERNE, vol. 14 (1): 62-67. Universidade Federal de Lavras. Brasil
- ARCOS-ROA J, MÉNDEZ-MONTIEL JT, CAMPOS-BOLAÑOS R (2007) Efecto del aceite de nim *Azadirachta indica* a. juss., sobre la termita de madera seca *Incisitermes marginipennis* (latreille) (ISOPTERA: KALOTERMITIDAE). Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 17(3): 373-377.
- BASKIN JM, BASKIN CC (2004) A classification system for seed dormancy. Seed Science Research 14, 1-16.
- BENITO-MATÍAS L, HERRERO SIERRA N, JIMÉNEZ I, PEÑUELAS RUBIRA J (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, ISSN 1575-2410, N°17, págs. 23-28
- BEWLEY JY, BLACK M (1994) Seeds. Physiology of Development and Germination, 2nd Ed, Plenum Press, New York, NY. 197 p.
- BONNER FT (1984) Testing of seed quality in Southern Oaks. Research Note SO-306.
- BRACK P, GRINGS M, KINUPP V, LISBOA G, BARROS I (2011) Especies Arbóreas de Uso Estratégico para la Agricultura Familiar. 20 p.
- BRASIL (2009) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Brasília. 399p.
- BUENO M, ALZUGARAY C, GIUBILEO A G, SEVERINA C, CARNEVALE N (2009) Evaluación de la calidad fisiológica de semillas de *Maytenus vitis-idaea* cultivadas in vitro. BOSQUE 30(3): 146-150.
- CABEZAS E (1995) Viabilidad de semillas de cinco especies forestales almacenadas al medio ambiente. En: Avances en la producción de semillas forestales en América Latina. Memorias del Simposio. CATIE. p. 199-202.
- CABRAL EL, BARBOSA DCA, SIMABUKURO EA (2003) Armazenamento e germinação de sementes de *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook. F. Ex. S. Moore. Acta Botanica Brasílica, 17(4): 609-617.
- CARAVITA ABBADE L, TAKAKI M (2014) Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia roseoalba* (ridl.) Sandwith - bignoniaceae, submetidas ao armazenamento. Revista Árvore, Viçosa-MG, 38 (2): 233-240.
- CARVALHO P (1994) Espécies Florestais Brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira. Colombo: Embrapa. 640 p.
- CARPENTER WJ, OSTMARK ER (1994) Temperature and desiccation after the germination of *Chamaedorea palm* seed. Proceedings of the Florida State Horticultural Society 107. Orlando, Florida, U.S.A. 30 October-1 November 1994. pp. 183-186.
- CHUNJIE L, YANRONG W, TINGHENG Z, LING Y (2002) Response of alfafa seed to stress storage conditions. Yingyong-Shengtai-Xuebao, Lanzhou. 13(8): 957-961.
- CORDERO C (1994) Determinación de la viabilidad en semillas de *Bombacopsis quinata* y *Tabebuia rosea* y comparación con resultados de viveros. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Tesis de especialidad. 64 p.
- DE OLIVEIRA LM, CARVALHO MLM, SILVA TT, BORGES DI (2005) Temperatura e regime de luz na germinação de sementes de *Tabebuia impetiginosa* (Martius ex A. P. de Candolle) Standley e T. serratifolia Vahl Nich. - Bignoniaceae. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, 29(3): 642-648.
- DUARTE E, LUNA C, SANSBERRO P (2013) Germinación *in vitro* de *Handroanthus heptaphyllus* (VELL.) MATTOS (Bignoniaceae). Actas de la Reunión de Comunicaciones

- Científicas y Tecnológicas. SECYT, UNNE. Disponible en: [www.unne.edu.ar](http://www.unne.edu.ar).
22. FAO (2011) Semillas en emergencias. Manual técnico. Cuaderno técnico N° 202. Roma. Italia. 86 p.
  23. FILHO J. 1999. Testes de vigor: importancia e utilização. Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina Abrates. cap 1: 1-21.
  24. HERNÁNDEZ PL (2000) Manual para producción de palma camedor. INIFAP. Folleto Técnico. 26. Centro de Investigación Regional Golfo Centro Campo Experimental el Palmar, Veracruz. México. 23 p.
  25. HIGA T (2006) Morfogênese e Conservação *in vitro* para *Tabebuia heptaphylla* (Vellozo) Toledo (Bignoniaceae). Tesis de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais Florianópolis, SC. 137 p.
  26. INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA) 1999. International Rules for Seed Testing. Seed Sci. and Technol. Volume 27. 340 pp.
  27. JUSTINIANO M, FREDERICKSEN T, NASH D (2000) Ecología y silvicultura de especies menos conocidas: Tajibos o Lapachos. Proyecto de manejo forestal sostenible BOLFOR. Editora El País. Bolivia. 60 pp.
  28. KANO NK, MARQUÊZ FCM, KAGEYAMA PY (1978) Armazenamento de sementes de ipê-dourado (*Tabebuia* sp). IPEF, n.17, p.13-23.
  29. KELLY KM, VAN STADEN J, BELL WE (1992) Seed coat structure and dormancy. Plant Growth Regulat. 11, 201-209.
  30. LABOURIAU L (1983) A germinação das sementes. OEA, Serie de biología, Monografía N° 24, 174 p.
  31. LOZANO E, ZAPATER M (2008) Delimitation and status of *Handroanthus heptaphyllus* and *H. impetiginosus*. (Bignoniaceae). Darwiniana 46(2): 304-317.
  32. MAEDA JA, MATHES LAF (1984) Conservação de Sementes de Ipê. Bragantia, 43(1):51-61.
  33. MAGUIRE, J (1962) Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Sci. 2: 176-177.
  34. MARRERO P, PADILLA D, VALDÉS F, NOGALES M (2007) Comparison of three chemical tests to assess seed viability: the seed dispersal system of the Macaronesian endemic plant *Rubia fruticos* (Rubiaceae) as an example. Chemoecology 17 (1): 47-50.
  35. MARTÍNEZ M, MANCUELLO C, BRÍTEZ F, PEREIRA C, ARRÚA J, FRANCO G, CONTEIRO M, IAÑEZ V, GONZÁLEZ F, BENÍTEZ B, LÓPEZ T, PÉREZ S, FERREIRA F (2012) Caracterización química y actividades biológicas de lapachol aislado de *Handroanthus heptaphyllus* (Vell.) Mattos. Steviana. 4: 47-64.
  36. MELLO CMC, EIRA MTS (1995) Conservação de sementes de ipês (*Tabebuia* spp.). Revista Árvore 19(4): 427-32.
  37. MORA AR, RODRÍGUEZ PJE, PEÑA LA, RAMÍREZ LV (2003) Respuesta de *Chamaedorea elegans* Mart. a tratamientos pregerminativos. Revista Chapingo. Serie Horticultura 9(1): 135-141.
  38. MOREIRA DE CARVALHO M, NERY M, DE OLIVEIRA L, HILHORST H, MENDES GUIMARÃES R (2008) Morphophysiological development of *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. seeds. Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.). 65(6):643-651.
  39. MOREIRA T, SOUZA E (1987) Mata ciliar: vamos abrir os olhos? Revista Globo Rural, São Paulo. 2 (20): 96-102.
  40. MORENO ÁLVAREZ M, BENÍTO MATÍAS L, HERRERO SIERRA N, DOMÍNGUEZ LERENA S, PEÑUELAS RUBIRA J (2001) Estudio de nuevos métodos de determinación de la viabilidad de las semillas forestales: test de electroconductividad e indigo carmín. Comparación con el test del tetrazolio y su aplicación a *Pinus pinaster* y *Pinus halepensis*. Actas del III Congreso Forestal Español. 2001. Granada., Mesa 3: 653-658.
  41. MORIN, TEIXEIRA DE MORAES M, MIDORI MORITA C, MORI E (2012) Genetic diversity between and within populations of *Handroanthus heptaphyllus* (vell.) Mattos using microsatellite markers. Cerne, Lavras. 18(1): 9-15.
  42. MURASHIGE T, SKOOG F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15: 473-497.
  43. MYCOCK DJ, BERJAK P (1995) The implication of seed associated mycoflora during storage. In: Kigel, J.; Galili, G. Seed development and germination. New York: M. Dekker, 747-766 p.
  44. NAKAGAWAJ (1999) Teste de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, p.2.1-2.24.
  45. OLIVEIRA LM (2004) Avaliação da qualidade de semente de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. E *Tabebuia impetiginosa* (Martius Ex A. P. De Candolle Standley) envelhecidas natural e artificialmente. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 160 p.
  46. PAULA J, ALVES J (1997) Madeiras nativas: anatomia, dendrologia, dendrometria, produção, uso. Brasília: Fundação Mokiti Okada. 541 p.
  47. PIVARAL LEIVA L (1999) Desarrollo de patrones de tinción de tetrazolio e indigo 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. (Flamboyán). Tesis para optar al grado de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola. Universidad de San Carlos de Guatemala. 92 p.
  48. RAMOS V, DURIGAN G, FRANCO G, SIQUEIRA M (2008) Árvores da floresta estacional semidecidual: guia de identificação de espécies. São Paulo: EDUSP; Biota/FAPESP, 320 p.
  49. RODRÍGUEZ M, DEL C, OROZCO SA, SÁNCHEZ CME, VÁZQUEZ YC (2000) Seed germination of six mature neotropical rain forest species in response to dehydration. Tree Physiology 20(10): 693-699.
  50. ROJAS AM, JURADO E, SÁNCHEZ RG, TREJO HL, LEAL RF (2000) Rapid viability loss in seeds of palmilla (*Chamaedorea radicalis* Mart.) from El Cielo Biosphere Reserve. The Southwestern Naturalist 45(3): 373-375.
  51. SAVONEN E (1999) An improvement to the topographic tetrazolium testing of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seeds. Seed Science and Technology, 26: 49-57.
  52. SELLE CM, GONZÁLEZ DE MEJÍA E, ELÍAS LG, BRESSANI RA (1983) Evaluación de algunas características químico-nutricionales de la semilla del árbol de hule (*Hevea brasiliensis*). Archivos Latinoam. Nutric. 33(4), 884-901.
  53. SHIBATA M, MEDEIROS COELHO C, DE OLIVEIRA L, GARCIA C (2012) Accelerated aging of ipê seeds under controlled conditions of storage. Revista Brasileira de Sementes, 34(2): 247-254.
  54. SILVA GILLI MARTINS M (2012) La viabilidad de las semillas almacenadas en frutas *Handroanthus heptaphyllus*. Beca de Maestría. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidade Estadual Paulista (UNESP). [en línea]. [fecha de consulta: 7 de mayo de 2013]. Disponible en: <<http://www.bv.fapesp.br/en/bolsas/115319/viability-seeds-stored-fruits-handroanthus/>>
  55. STEINER A M, KRUSE M, FUCHS, H (1999) A re-assessment of the comparison of tetrazolium viability testing and germination testing. Seed Science and Technology, 27: 59-65.
  56. TEKRONY DM (1995) Accelerated ageing. In: H. A. Van de Venter (ed.). ISTA seed vigour testing seminar. Copenhagen, ISTA. pp 33-72.
  57. TORTORELLI LA (1956) Maderas y Bosques Argentinos. Buenos Aires: Acme S. A. 910 p.
  58. VÁZQUEZ YC, OROZCO SA, SÁNCHEZ CME (1999) Recalcitrance among the seeds of the woody plants growing at the Northern limit of the tropical rain forest in the American continent. Proceedings of the IUFRO Seed Symposium. Kuala Lumpur, Malasya, 12-15 October 1998. pp. 329-335.
  59. VELÁSQUEZ L (2006) Caracterización del banco edáfico de semillas de *Acacia melanoxylon* R. Brown en dos sitios de la provincia de Concepción. Tesis (Ing For). Universidad de Concepción. Fac. de Ciencias Forestales. Chile. 34 p.
  60. VIEIRA CP, VIEIRA RD, PASCHOALICK JHN (1994) Effects of mechanical damage during soybean seed processing on physiological seed quality and storage potential. Seed Sc & Technology. 22: 581-589.

61. ZAPATER M, CALIFANO L, DEL CASTILLO E, QUIROGA M, LOZANO E (2009) Native and exotic species of *Tabebuia* and *Handroanthus* (Tecomeae, Bignoniaceae) in Argentina. *Darwiniana* 47(1): 185-220.
62. ZAPATER M, CALIFANO L, DEL CASTILLO E (2006) Avances en el Estudio de las Especies de *Tabebuia* (Bignoniaceae) y su Cultivo en la selva subtropical del Norte Argentino. II Congreso Nacional de Biodiversidad, p 3-4.