

PROMOCIÓN DE LA EMERGENCIA DE *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong

Pre-germinative treatments to promote emergency of *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong

Romina Fabiana Porger¹ y Claudia Verónica Luna²

Resumen

Los estudios acerca de la promoción y comportamiento de la germinación contribuyen al avance de métodos adecuados para el manejo de especies forestales. El objetivo de este estudio fue investigar la promoción de la emergencia en *Enterolobium contortisiliquum*, tomando en cuenta la viabilidad y tratamientos pregerminativos de escarificación física, mecánica y física-mecánica y su influencia sobre la emergencia de plántulas. Las semillas se separaron en tres categorías de peso (ligeras, intermedias y pesadas) para determinar el porcentaje de germinación por clase. A fin de evaluar la calidad fisiológica de las semillas, se logró la interpretación de pruebas de viabilidad y detección de daños en semillas por métodos destructivos y no destructivos; y se demostró la utilidad de estas técnicas. En cuanto al efecto de tratamientos pregerminativos de semillas para promover la emergencia de plántulas *E. contortisiliquum*, concluimos que resultó con mayor eficacia el escarificado mecánico, con ruptura del tegumento mediante exposición a las aspas de licuadora a baja velocidad por 30 segundos, previo a la siembra.

Palabras clave: Oreja de Negro, latencia, tegumento, escarificación.

Abstract

Studies on the promotion and behavior of germination contribute to the development of suitable methods for the management of forest species. The object of this study was to investigate the promotion of emergence on *Enterolobium contortisiliquum*, taking into account the viability and pregerminative treatments of physical, mechanical and physical-mechanical scarification and their influence on the emergence of seedlings. The seeds were separated into three categories according to their weight (light, intermediate and heavy) to determine the percentage of germination per class. To evaluate the physiological quality of the seeds, it was possible to perform and interpret the results of viability tests and to detect of seed damage by destructive and non-destructive methods; and the usefulness of these techniques was demonstrated. Regarding the effect of pregerminative treatments of seeds to promote the emergence of *E. contortisiliquum* seedlings, we concluded that the mechanical scarification was more effective, with tegument rupture by exposure to blender blades at low speed for 30 seconds, prior to planting.

Key words Ear of Black, latency, tegument, scarification.

Introducción

Enterolobium contortisiliquum (Vell.) Morong se encuentra distribuida en el Bosque Atlántico semi-caducifolio que se extiende por el sur de Brasil, noreste de Argentina (en la provincia de Misiones) y este de Paraguay; formando parte del dosel superior (Campanello *et al.*, 2011). Se trata de una especie heliófila, poco exigente en cuanto a las características del suelo; de crecimiento rápido (Lozano *et al.*, 2016), siendo importante su aplicación en forestación, reforestación, recuperación de áreas degradadas, apicultura, producción de madera, medicina y jardinería (Lorenzi, 2002). Su madera es ligera y puede ser

utilizada en la fabricación de juguetes, artesanías, canoas, tejados, contenedores y cajas (Lima *et al.*, 2009).

La propagación por semilla es el método más frecuente para la producción de muchas leñosas, sin embargo, comúnmente existen problemas de latencia que dificultan la germinación y emergencia. La latencia seminal es uno de los principales problemas para la producción de plántulas forestales (Oliveira *et al.*, 2003). En muchas especies, la baja germinación de las semillas está asociada al endurecimiento de la cubierta seminal (Zida *et al.*, 2005) lo que la hace casi impermeable a la entrada de oxígeno y agua, y en algunas

¹Cátedra de Silvicultura. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste. Sargento Cabral 2131, W3402BKG-Corrientes-Argentina.

²CONICET, Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE)–CONICET. Sargento Cabral 2131, W3402BKG-Corrientes-Argentina; Tel:++54 379 4427589 int. 156. Orcid.org/0000-0001-7895-3993. Correo electrónico: cluna@agr.unne.edu.ar; claudiaverluna@gmail.com

especies pueden ser una barrera mecánica a la germinación o pueden contener compuestos químicos que inhiben el proceso (Bewley y Black, 1994).

La latencia asegura la sobrevivencia de la mayor proporción posible de las semillas caídas al suelo en condiciones naturales (Bewley y Black, 1994), pero representa un problema para obtener una emergencia rápida y uniforme en los viveros y por lo tanto se requiere aplicar tratamientos pregerminativos para superarla.

Estudios de germinación de las semillas de especies forestales son fundamentales para mejorar las técnicas que permiten el manejo adecuado, ya sea en un ambiente natural o modificado (Trindade-Lessa *et al.*, 2015).

Por ello el objetivo de este trabajo fue determinar la viabilidad y evaluar el efecto de tratamientos pregerminativos de semillas de *Enterolobium contortisiliquum* para promover la emergencia de las plántulas.

Material y métodos

Los frutos maduros de 10 árboles urbanos de *E. contortisiliquum* fueron recolectados al azar en julio de 2016 en la ciudad de Corrientes, Argentina (27° 29' 00" y 58° 49' 00"), fueron seleccionados individuos con apariencia sana, y espaciados a una distancia mayor a 50 m entre sí.

Las evaluaciones se realizaron sobre las semillas de dos frutos por árbol tomadas al azar. Las semillas fueron extraídas de los frutos manualmente.

Pruebas de viabilidad. Se utilizó la prueba topográfica por tetrazolio, para la evaluación de la calidad de las semillas mediante la tinción de los tejidos en presencia de una solución de la sal de cloruro de 2, 3, 5-trifenil tetrazolio, que permite distinguir las áreas vivas en las semillas (áreas de color rojo) de las áreas muertas que no poseen coloración (Hampton y Tekrony, 1995).

Se trabajó con 4 repeticiones de 25 semillas cada una, tomadas al azar que se acondicionaron realizando una imbibición durante 48 h. Para 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. Estos frascos 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 % de semillas viables (semillas mayormente teñidas) y semillas no viables (embrión sin tinción).

Se complementó con la prueba del índigo carmín en la cual se produce la coloración del tejido muerto de la semilla. Se tomaron 4 repeticiones de 25 semillas cada una, tomadas al azar y se las sumergieron 18h en agua destilada para reblandecer el tegumento. Posteriormente se incubaron en la solución de índigo carmín durante 3h a temperatura ambiente. Se lavaron y se clasificaron en viables (blancos o con pocas manchas azules nunca localizadas en la radícula) y no viables (zona de la radícula totalmente teñida y/o embrión teñido).

Como método no destructivo para la determinación de viabilidad se realizó la prueba de rayos X donde las áreas claras representan las partes mucho más densas del objeto, dificultando el paso de la radiación. Las semillas se pegaron a una placa de plástico auto adherible de polipropileno, la que se colocó sobre una placa de acrílico transparente en la cámara de irradiación no digital (Faxitron X-Ray modelo MX-20; Specimen Radiography System®, Illinois, USA) y se sometió a exposiciones a 18 kV por 10 s. Posteriormente, las placas se revelaron en una impresora digital para rayos X (procesador Hope X Ray; Micro-Max modelo 319®).

La evaluación de la clasificación final del sistema de determinación de viabilidad/daño por método destructivo/no destructivo en semillas *E. contortisiliquum* (Viables (V)/No viables (N/V)), se realizó mediante matriz de confusión con los dos métodos que pueden detectar daños en las semillas o identificar tejido muerto, como lo son prueba del índigo carmín y de rayos X.

Evaluación de tratamientos pregerminativos y su influencia sobre la emergencia de plántulas. Se ensayaron cuatro tratamientos de escarificado físico: T1-sumergir las semillas en agua a 100 °C y dejarlas en remojo por 24 horas permitiendo que el agua se enfríe naturalmente; T2-sumergir por 15 minutos en agua a 100 °C, sacar las semillas y dejarlas enfriar a temperatura ambiente; T3-sumergir por 30 minutos en agua a 100 °C, sacar las semillas y dejarlas enfriar a temperatura ambiente; T4-sumergir las semillas en agua a temperatura ambiente y dejarlas en remojo por 24 horas. Tres tratamientos de escarificado mecánico: T5- ruptura física de las semillas

mediante exposición a las aspas de licuadora a baja velocidad por 15 segundos; T6-ruptura física de las semillas mediante exposición a las aspas de licuadora a baja velocidad por 30 segundos; T7-ruptura física de las semillas con papel de lija n° 80 hasta dejar expuestos los cotiledones (Romero *et al.*, 2013); y un tratamiento de escarificado físico-mecánico: T8-sumergir las semillas en agua a 100 °C y dejarlas en remojo por 24 horas permitiendo que el agua se enfríe naturalmente, y luego realizar un corte al tegumento seminal con bisturí.

El sustrato empleado fue arena estéril contenida en bandejas plásticas rectangulares de 43 x 37 x 17 cm de largo, ancho y profundidad, respectivamente. En ambas especies la profundidad de siembra fue de aproximadamente 0.5 cm. Las bandejas se mantuvieron en cámara de incubación en condiciones de luz (116 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PAR; fotoperiodo, 14 horas) y temperatura (27±2 °C) controlada.

Para la evaluación de distintos tratamientos pregerminativos y su influencia sobre la emergencia de plántulas, en primera instancia, se tomó al azar un lote de 100 semillas y se le practicó el T7 como control (Romero *et al.*, 2013); al observar la alta heterogeneidad en la germinación, se las clasificó por tamaño (tomando como referencia la longitud en mm) en: pesadas: ≥ 11 mm; intermedias: 7-11 mm; ligeras: ≤ 7 mm. Al observar los resultados expresados en la tabla 1, se continuó los siguientes ensayos con semillas medianas de ambas especies.

Se determinó el porcentaje de emergencia total (% E), tiempo para iniciar la emergencia (TI), tiempo para alcanzar el 50% de la emergencia total

(TE 50) y lapso entre la ocurrencia del 10 y 90% de la emergencia total (TE 10-90), todos con base en los valores promedios.

Tabla 1. Porcentaje de germinación PG (media \pm error estándar) en semillas de *E. contortisiliquum* clasificadas por tamaño.

Tamaño semillas	pesadas	ligeras	intermedias
PG (%)	13.30±1.10	15±0.96	31.66±0.37

El diseño experimental fue completamente al azar con cuatro repeticiones de 25 semillas cada uno. La emergencia se consideró al aparecer la plúmula sobre el sustrato con la apertura completa de los cotiledones, ya que la germinación de la especie es epígea. Los conteos se realizaron cada dos días luego de iniciado el proceso de emergencia y se mantuvieron hasta que los valores permanecieron constantes por 10 días. Se trabajó con los promedios de los árboles.

Los datos fueron transformados ($y = \log_e x$) y analizados estadísticamente con el software Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2011). Se realizó el análisis de la varianza comparando las medias de los tratamientos a través de la prueba de Duncan ($P \leq 0.05$).

Resultados

En referencia al patrón elaborado por Pivaral (1999) para las semillas de una especie del mismo género, se determinaron los porcentajes de viabilidad para ambos métodos de tinción (figura 1).

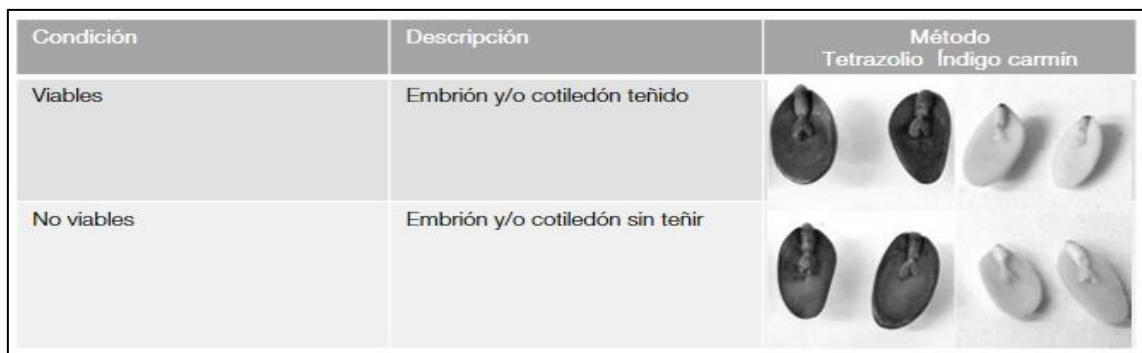


Figura 1. Patrón de viabilidad por prueba topográfica de tetrazolio y del índigo carmín en semillas de *E. contortisiliquum*, tomado de Pivaral (1999).

Como podemos observar con el test de tetrazolio se identificó un 55.83% de semillas viables, mientras que en la prueba del índigo carmín se observó un menor porcentaje (tabla 2).

Los estudios para la detección de daño de esta población permitieron constatar la existencia de un elevado porcentaje semillas sin daño con la técnica de rayos X en comparación con la técnica de Índigo

carmín que define claramente daño en la semilla (Prieto *et al.*, 2011) (figura 2).

Tabla 2. Porcentaje de viabilidad (media \pm error estándar) por métodos destructivos (prueba del índigo carmín y topográfica por tetrazolio); y no destructivo (placas radiográficas).

Método	Viables	No viables
Índigo carmín	41.17 \pm 1%	58.82 \pm 1.41%
Tetrazolio	55.83 \pm 0.75%	44.16 \pm 0.54%
RX	87 \pm 2.30%	13.13 \pm 1.56%

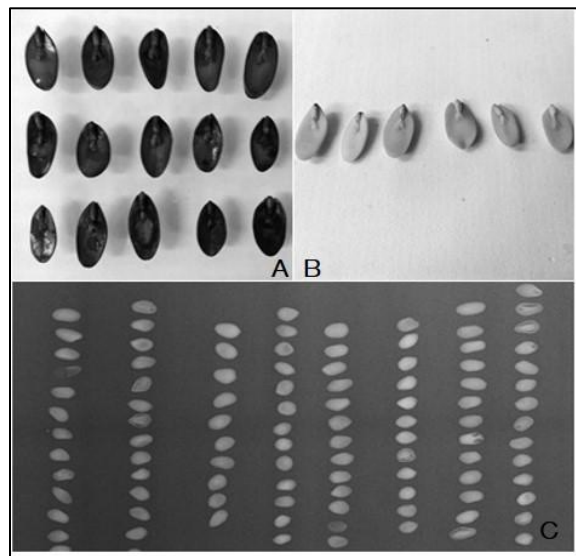


Figura 2. Ensayo de viabilidad por prueba topográfica de tetrazolio (A), del índigo carmín (B) y placas radiográficas (C) en semillas de *E. contortisiliquum*.

Los resultados de la matriz de confusión mostraron que la coincidencia en semillas sin daño fue del 47.90%; mientras que comparando las técnicas en semillas con daño se obtuvo un mayor

porcentaje de coincidencia; lo que podría ser considerado como aceptable sobre todo para esta categorización, ya que ambas técnicas poseen el mismo principio de identificación, es decir que son confiables los resultados de ambas técnicas para caracterizar semillas con daño (tabla 3).

Tabla 3. Evaluación de la clasificación final del sistema de determinación de viabilidad/daño por método destructivo/no destructivo en semillas *E. contortisiliquum* (Viables (V)/No viables (N/V)).

Clasificación Índigo carmín	Clasificación Rayos X		Coincidencia %
	V	N/V	
V 58.82	87	28.18	47.90
N/V 41.17	13.13	45.69	68.10

En cuanto a los tratamientos de escarificado (tabla 4) se observa que resultó con mayor eficacia el escarificado mecánico, donde el T6 registró el mayor porcentaje y el T7 (lijado de las semillas) le siguió con más del 50% de germinación; mientras que el escarificado físico no demostró ser el más efectivo (tratamientos dos y cuatro), ya que se registraron los menores valores.

En cuanto al inicio de la emergencia (TI) osciló entre 7.67 \pm 1.53 y 13.33 \pm 1.53 días, viéndose favorecido por el T1 con el menor tiempo; mientras que el tiempo requerido para alcanzar el 50% de la emergencia total (TE 50) se favoreció coincidentemente con el T6, que proporcionó el mayor valor de emergencia total. El tratamiento pregerminativo que permitió registrar el lapso entre la ocurrencia del 10 y 90% de la emergencia de las plántulas (E10-90) fue el T6 (tabla 4).

Tabla 4. Promoción de la emergencia en semillas de *E. contortisiliquum* (media \pm error estándar). Dónde: Porcentaje de emergencia total (% E), tiempo para iniciar la emergencia (TI), tiempo para alcanzar el 50% de la emergencia total (TE 50) y lapso entre la ocurrencia del 10 y 90% de la emergencia total (TE 10-90). Los valores expresan el promedio \pm SD (n= 100). Valores seguidos por la misma letra no presentan diferencias estadísticas significativas entre sí (Duncan P \leq 0.05).

Tratamientos	Variables evaluadas			
	(% E)	TI (días)	TE 50% (días)	TE 10-90 (días)
T1	19.33 \pm 0.58 c	7.67 \pm 1.53 a	-	-
T2	8.00 \pm 1.00 b	10.67 \pm 1.15 bc	-	-
T3	17.00 \pm 2.00 c	12.33 \pm 1.51 bc	-	-
T4	4.33 \pm 1.54 a	12.00 \pm 1.00 bc	-	-
T5	55.33 \pm 1.53 e	10.67 \pm 1.52 bc	16.67 \pm 1.51 c	-
T6	92.67 \pm 1.52 f	11.53 \pm 2.00 bc	13.00 \pm 2.00 b	5.33 \pm 1.54 b
T7	71.33 \pm 1.53 e	10.00 \pm 2.00 ab	15.67 \pm 0.58 c	-
T8	10.00 \pm 1.00 b	13.33 \pm 1.53 c	-	-

Discusión

En ocasiones se recomienda el test de tetrazolio como buen predictor de la germinación, para una gran variedad de especies forestales; aunque presenta algunos inconvenientes (ISTA, 1999). 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, 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 *Enterolobium cyclocarpum*, *Gliricida sepium* y *Delonix regia* (Pivaral, 1999), *Pinus pinea* (Benito-Matías *et al.*, 2004); *Schinopsis balansae* (Alzugaray *et al.*, 2005); *Aspidosperma quebrachoblanco* (Alzugaray *et al.*, 2006); *Rubia fruticosa* (Marrero *et al.*, 2007); *Maytenus vitis-idaea* (Bueno *et al.*, 2009) entre otras; para la especie en estudio existen pocos reportes acerca de su uso y/o adaptación.

A través de imágenes radiográficas se han identificado propiedades estrechamente relacionadas con la viabilidad y el vigor de las semillas (anatomía, defectos morfológicos, cambios fisiológicos que ocurren durante la maduración y ataque de insectos entre otros). Cuando los rayos X pasan a través del objeto, se absorbe esta radiación primaria en distinto grado por el objeto, dependiendo de su espesor, densidad, composición química y de la longitud de onda de la radiación. Los rayos X pasan a través del objeto creando la imagen radiográfica del espécimen sobre un *film* fotográfico, platina o cámara fluorescente. Las áreas que aparecen oscuras en la imagen obtenida son las más fácilmente penetradas por los rayos, o sea que representan las áreas del espécimen a través de las cuales ha pasado relativamente más radiación, oscureciendo el *film*. Las áreas claras representan las partes mucho más densas del objeto, es decir con algún daño, dificultando el paso de la radiación (Alzugaray *et al.*, 2006).

En este trabajo, ha demostrado una gran utilidad el empleo de los análisis radiográficos en el estudio de la viabilidad/estado de las semillas lo cual ha sido puesto de manifiesto para otras especies forestales (Salinas *et al.*, 2008); ya que proporciona un análisis rápido y bastante preciso de las

estructuras internas de la semilla, identificando aquellas semillas vacías, dañadas por insectos o pobremente desarrolladas (Bonner, 1998). Sin embargo, no brinda tan clara resolución de las estructuras internas como el análisis de imágenes provenientes del uso de los métodos de resonancia magnética y tomografía computarizada (Iglesias *et al.*, 2006); que con la disponibilidad de dicha tecnología se dispondría de datos de mayor calidad.

La precisión de las estimaciones se determinó mediante una matriz de confusión; ya que es una herramienta utilizada frecuentemente para la presentación y el análisis de resultados de una clasificación debido a su capacidad de plasmar los conflictos entre clases. Así no solo se conoce el porcentaje correcto de clasificación sino también la fiabilidad para cada una de las clases (Valdovinos, 2006); en este caso porcentaje de semillas que fue correctamente asignada a las diferentes categorías (semillas viables y no viables).

Las semillas de *E. contortisiliquum* presentan un estado de latencia debido a la dureza de sus tegumentos; para aumentar el porcentaje de germinación es necesario romperla usando métodos de escarificación (Romero *et al.*, 2013; Tapia *et al.*, 2014). Este tipo de latencia es frecuente en las especies de Fabaceae; Rolston (1978) reportó que, de 260 especies evaluadas de esta familia, aproximadamente el 85% presentaban semillas con tegumentos total o parcialmente impermeables, que le confieren latencia o dormancia, señalando además que se debe a la presencia de un estrato de células epidérmicas tegumentarias en forma de empalizada asociadas a una capa cuticular cerosa.

El propósito de remojar las semillas en agua caliente es modificar las cubiertas duras, remover los inhibidores, ablandar las semillas y reducir el tiempo de germinación. Este tratamiento a temperaturas y tiempos de inmersión variables ha resultado ser altamente efectivo para romper la latencia en varias especies (Atencio *et al.*, 2003) y aunque requiere de cuidados especiales, es económico, fácil y seguro de aplicar. El choque de calor al sumergir las semillas en agua caliente puede ser más efectivo que la escarificación mecánica para algunas especies, pero los óptimos de temperatura y tiempo de remojo son altamente dependientes de la especie y al no determinarlos pueden tener resultados adversos (Zida *et al.*, 2005). Liu *et al.* (1981) por su parte señalan que la exposición al agua caliente ocasiona una expansión térmica que separa o destruye las células columnares de la capa de macrosclereidas

lo que permite que el agua penetre fácilmente y reduzca significativamente la viabilidad de las semillas. En semillas de *Bauhinia monandra* y *B. unguolata*, por ejemplo, el remojo en agua caliente a temperatura de 80 °C inhibió la germinación (Alves *et al.*, 2000); resultados similares se han reportado también para semillas de *E. contortisiliquum* (Contro y Matos, 2004).

Tapia *et al.* (2014) y Lozano *et al.* (2016) comprobaron que en semillas de *E. contortisiliquum*, la escarificación mecánica con lijado suave del tegumento tiene una mayor influencia en la germinación; coincidente con los resultados obtenidos en este ensayo; aunque los mejores resultados se obtuvieron con una escarificación mecánica más agresiva con las aspás de licuadora, compatible con lo reportado por Martínez-Rodríguez *et al.* (2000) para *Prosopis velutina*.

Los tratamientos de escarificación mecánica o química han demostrado su eficacia en *E. contortisiliquum* (Lozano *et al.*, 2016), aunque esta última requiere el ajuste del tiempo en que las semillas son sometidas a dichos tratamientos para evitar el daño o la muerte del embrión (Baskin y Baskin, 2014; Galíndez *et al.*, 2015). Por su parte Eibl *et al.* (1994) y Engel y Parrotta (2001) afirman que las semillas de esta especie requieren un proceso de escarificación para mejorar su porcentaje de germinación; mientras que Rossini *et al.* (2006) ha logrado un 100% de semillas germinadas sin tratamiento alguno; posiblemente estas diferencias en el germoplasma, no solo de esta especie sino de muchas otras e inclusive entre especies de un mismo género, pueda deberse a la dormancia de las semillas, pero también deben intervenir otros factores, como ser edáficos o climáticos.

Según Rossini *et al.* (2006) las semillas de *E. contortisiliquum* inician su germinación antes de transcurrida una semana de efectuada la siembra, precisamente en 3 días, y el 50% de la emergencia total (E50) se da entre 3-6 días; de hecho, valores mucho menores a los registrados en este ensayo.

Conclusiones

A fin de evaluar la calidad fisiológica de las semillas de *E. contortisiliquum* se logró la interpretación de pruebas de viabilidad y detección de daños en semillas por métodos destructivos y no destructivos; y se demostró la utilidad de estas técnicas.

En cuanto al efecto de tratamientos pregerminativos de semillas para promover la emergencia de plántulas *E. contortisiliquum*, concluimos que resultó con mayor eficacia el escarificado mecánico, con ruptura del tegumento mediante exposición a las aspás de licuadora a baja velocidad por a baja velocidad por 30 segundos, previo a la siembra.

Literatura citada

- ALVES, A.; MEDEIROS-FILHO, S.; ANDRADE-NETO, M. and TEÓFILO, E. 2000. Superação da dormência em sementes de *Bauhinia monandra Brito* e *Bauhinia unguolata L.*, Caesalpinoideae. Revista Brasileira de Sementes 22(2):139-144.
- ALZUGARAY, C.; CARNEVALE, N.; SALINAS, A. and 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, N.; SALINAS, A. y PIOLI, R. 2006. "Calidad de semillas de *Aspidosperma quebracho-blanco* Schlecht". Revista de Ciencias Forestales-Quebracho (13):26-35.
- ATENCIO, L.; COLMENARES, R.; RAMÍREZ-VILLALOBOS, M. y MARCANO, D. 2003. Tratamiento pregerminativos en acacia San Francisco (*Peltophorum pterocarpum*) Fabaceae. Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ) 20(1):63-71.
- BASKIN, C. and BASKIN, J. 2014. Seeds: Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. Academic Press, San Diego.
- BENITO-MATÍAS, L.; HERRERO-SIERRA, N.; JIMÉNEZ, I. y PEÑUELAS, R. 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. and BLACK, M. 1994. Seeds: physiology of development and germination. 2 Ed. New York: Plenum Press. 445 p.
- BONNER, F. 1998. Testing tree seeds for vigor: a review. Seed Technology 20:5.

- BUENO, M.; ALZUGARAY, C.; GIUBILEO, A.; SEVERINA, C. y CARNEVALE, N. 2009. Evaluación de la calidad fisiológica de semillas de *Maytenus vitis-idaea* cultivadas *in vitro*. *Bosque* 30(3):146-150.
- CAMPANELLO, P.; GATTI, G.; MONTTI, L.; VILLAGRA, M. y GOLDSTEIN, G. 2011. Ser o no ser tolerante a la sombra: economía de agua y carbono en especies arbóreas del Bosque Atlántico (Misiones, Argentina). *Ecología Austral* 21:285-300.
- CONTRO, U. and DE MATOS, M. 2004. Dormancy breaking and germination of *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong seed. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 47(6):851-854.
- DI RIENZO, J.A.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.G.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M. y ROBLEDO, C.W. 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Disponible en: <http://www.infostat.com.ar>.
- EIBL, B.; SILVA, F.; CARVALLO, A.; CZEREPAK, P. y KEHL, J. 1994. Ensayos de germinación análisis cuantitativo en semillas de especies forestales nativas de Misiones, R.A. *Revista Forestal Yvyrareta*. Resúmenes, 5 (5):2-3.
- ENGEL, V. and PARROTTA, J. 2001. An evaluation of direct seeding for reforestation of degraded lands in central São Paulo state, Brazil. *Forest Ecology and Management* 152(1-3):169-181.
- HAMPTON, J. and TEKRONY, D. 1995. Handbook of vigour test methods. International Seed Testing Association. Zürich, 117 p.
- GALÍNDEZ, G.; MALAGRINA, G.; CECCATO, D.; LEDESMA, T.; LINDOW-LÓPEZ, L. y ORTEGABAES, P. 2015. Dormición física y conservación *ex situ* en semillas de *Amburana cearensis* y *Myroxylon peruiferum* (Fabaceae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 50: 153-161.
- IGLESIAS, L.; MORA, I. y CASAS, J. 2006. Morfometría, viabilidad y variabilidad de las semillas de la población de *Pinus hartwegii* del cofre de perote, Veracruz, México. *Cuadernos de Biodiversidad* 19: 14-22.
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA) 1999. International Rules for Seed Testing. *Seed Science and Technology*. Volume 27. 340 p.
- LIMA, R.; OLIVEIRA, P. and RODRIGUES, L. 2009. Anatomia do lenho de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong (Leguminosae-Mimosoideae) ocorrente em dois ambientes. *Brazilian Journal of Botany* 32(2):361-374.
- LIU, N.; KHATAMIAN, H. and FRETZ, T. 1981. Seed coat structure of three woody legume species after chemical and physical treatments to increase seed germination. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 106(5): 691-694.
- LORENZI, H. 2002. Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum. 368 p.
- LOZANO, E.; ZAPATER, M.; MAMANI, C.; FLORES, C.; GIL, M. y SÜHRING, S. 2016. Efecto de pretratamientos en semillas de *Enterolobium contortisiliquum* (Fabaceae) de la selva pedemontana Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 51(1):79-87.
- MARRERO, P.; PADILLA, D.; VALDÉS, F. and NOGALES, M. 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.
- MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, O.; RIVERA-MAYA, J. y SANTAMARÍA-CÉSAR, E. 2000. Evaluación de 25 tratamientos pregerminativos en semillas de mezquite (*Prosopis velutina* Wooton) en área de influencia de la URUZA. *Revista Chapingo Serie Zonas Aridas* 93-100.
- OLIVEIRA, L.; DAVIDE, A. and MOREIRA, M. 2003. Avaliação de métodos para quebra da dormência e para a desinfestação de sementes de cañafístula (*Peltophhorum dubium* (Sprngel) Taubert). *Revista Árvore* 27(5): 597-603.
- PIVARAL, L.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. (Flamboyán). Tesis para optar al grado de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola. Universidad de San Carlos de Guatemala. 92 p.
- PRIETO, M. J.; PRIETO, G.F.; HERNÁNDEZ, C.N.; DOMÍNGUEZ, S.J. y ROMÁN, G.A. 2011. Métodos comparativos del poder germinativo en

- Hordeum distichon* L. calidad maltera. Multiciencias 11(2):121-118.
- ROLSTON, M. 1978. Water impermeable seed dormancy. The Botanical Review 44: 365-396.
- ROMERO, A.; TAPIA, A.M.; LUQUE, V.; AYBAR, S.; GERVASONI, P. y ALLOLIO, P. 2013. Valoración de distintas técnicas para la ruptura de la dormición en semillas *Enterolobium contortisiliquum* (pacará). Biología En Agronomía 3(2):41-47.
- ROSSINI, O.S.; VALDÉS, B.; ANDRÉS, M.; MÁRQUEZ, C.F. y BUESO, L.M. 2006. Germinación de las semillas en algunas especies americanas de fabaceae y bignoniaceae cultivadas en Sevilla (so España). Lagascalía 26:119-129.
- SALINAS, A.; CRAVIOTTO, R.; BISARO, V.; FERRARI, S.; GALLO, C.; ARANGO, M. y SEGUETTI, J. 2008. Caracterización de semillas de *Pinus elliotii* Engelm. a través de variables físicas y radiográficas. Revista Científica Agropecuaria 12(2): 71-84.
- TAPIA, A.; ROMERO, A.; LUQUE, V.; GERVASONI, P.; AYBAR, S.; LOBO FURQUE, A. y GOMEZ, I. 2014. Determinación de la viabilidad y aplicación de distintas técnicas de escarificación en semillas de *Enterolobium contortisiliquum*. Revista agronómica del noroeste argentino 34(2):52-53.
- TRINDADE-LESSA, B.; NOBRE-DE ALMEIDA, J.; LOBO-PINHEIRO, C.; MELO-GOMES, F. y MEDEIROS-FILHO, F. 2015. Germinación y crecimiento de plántulas de *Enterolobium contortisiliquum* en función del peso de la semilla y las condiciones de temperatura y luz. Agrociencia 49: 315-327.
- VALDOVINOS, R.R. 2006. Técnicas de submuestreos, toma de decisiones y análisis de diversidad en aprendizaje supervisado con sistemas múltiples de clasificación. Tesis doctoral. Departamento de lenguajes y sistemas informáticos. Universidad de Jaume-Í. 270 p.
- ZIDA, D.; TIGABU, M.; SAWADOGO, L. and ODEN, P. 2005. Germination requirements of seeds of four woody species from the Sudanian savanna in Burkina Fasp, West Africa. Seed Science and Technology 33:581-593.

Recibido en agosto de 2017
Aceptado en febrero de 2018