

## FISIOLOGÍA DE LA GERMINACIÓN DE *Rhodophiala bifida*

ACOSTA, M. C.<sup>1</sup>; ALCARAZ, M. L.<sup>1</sup>; SCARAMUZZINO, R. L.<sup>1</sup> & MANFREDA, V. T.<sup>1</sup>

### RESUMEN

Nuestro objetivo es contribuir al conocimiento de las características fisiológicas básicas de la germinación y perduración de semillas de *Rhodophiala bifida*. Se evaluó el efecto de diferentes temperaturas, presencia/ausencia de luz, dos años de cosecha y uno de almacenamiento, sobre el porcentaje final de estados seminales. Mediante el ajuste del porcentaje de germinación en función del tiempo, se estimaron: Porcentaje Máximo, Tiempo Medio y Uniformidad de Germinación. Las semillas evidenciaron fotoblastismo neutro, sin dormición ni problemas sanitarios. Entre los 7 y 28 °C superaron el 90 % de germinación, en ambas cosechas y con un año de almacenamiento (buena perdurabilidad); a 33 °C disminuyó un 10 % y coincidió con el aumento de semillas muertas y firmes blancas. La dinámica de germinación se ajustó a la función utilizada. Con los Tiempos Medios en el rango entre 7 y 25 °C, se estimó la Temperatura óptima (25 °C), la T. Base (4,83 °C) y Tiempo Térmico (1666 °Ch).

*Key words:* *Rhodophiala bifida*, germinación, perdurabilidad.

### ABSTRACT

#### **Physiology of *Rhodophiala bifida* germination.**

Our aim is to contribute to the knowledge of the basic physiological characteristics of the germination and durability of *Rhodophiala bifida* seeds. The effect of different temperatures, presence / absence of light, two years of harvest and one of storage, on the final percentage of seminal states was evaluated. By adjusting the germination percentage as a function of time, the following were estimated: Maximum Percentage, Average Time and Germination Uniformity. The seeds showed neutral photoblastism, without dormancy or sanitary problems. Between 7 and 28 °C they exceeded

---

1.- Facultad de Agronomía (UNCPBA). República Italia 780, 7300, Azul, Buenos Aires, Argentina; +542281433291. int.6024. Email: cacosta@faa.unicen.edu.ar  
Manuscrito recibido el 1ro. de abril de 2020 y aceptado para su publicación el 7 de julio de 2020.

---

Acosta, M.C.; Alcaraz, M.L.; Scaramuzzino, R.L.; Manfreda, V.T. Fisiología de la germinación de *Rhodophiala bifida*. FAVE - Ciencias Agrarias 19 (1): 159-173. CC BY-NC-SA 4.0

90 % of germination, in pregnancies and with one year of storage (good perdurability); at 33 °C it decreased by 10 % and coincided with the increase in dead and firm white seeds. Germination dynamics adjust to active function. With the Average Times in the range between 7 and 25 °C, the Optimum Temperature (25 °C), Base (4.83 °C) and Thermal Time (1666 °Ch).

*Key words: fRodophiala bifida, germination, perdurability.*

## INTRODUCCIÓN

El proceso desde la geminación al establecimiento de plántulas, es uno de los hechos más importantes del ciclo de vida de las plantas (Benech-Arnold y Sanchez 2004, Filho 2015). El éxito de este proceso se origina tanto en la acción de diversos factores externos, temperatura, oxígeno, luz, potencial hídrico del medio, etc., como así también en las características de las propias semillas, ya sean genéticas o derivadas de las condiciones ambientales durante su formación, madurez y conservación (Bewley 1997, Bewley y Black 1994, Dantas *et al.* 2015, Philo 2015, Shaban, 2013). Con frecuencia se ha encontrado que las semillas de diferentes poblaciones o de diferente origen geográfico varían en los requisitos de germinación y en el grado de dormición (Bevington 1986, Dorne 1981, Mc Williams *et al.* 1968, Pegtel 1985) en relación con la madurez de la semilla y las condiciones ambientales durante su desarrollo (Chaisurisri *et al.* 1992).

Si bien la humedad, el oxígeno y la temperatura son esenciales para la germinación, ciertas especies también requieren luz. La respuesta a la luz de semillas de varios cientos de especies ha sido estudiada (McDonald y Copeland 1999), encontrándose especies cuya germinación fue promovida por la luz, otras por la oscuridad, y otras resultaron indiferentes a esta condición

(Baskin y Baskin 2014, Mayer y Poljakoff-Mayber 1982, McDonald y Copeland 1999). Particularmente en las especies silvestres se ha encontrado gran variabilidad de respuestas frente a este factor (Mayer y Poljakoff-Mayber 1982).

Uno de los principales factores ambientales que afecta la germinación es la temperatura (Lindow *et al.* 2017), y los modelos de tiempo térmico han permitido estudiar las temperaturas cardinales para la germinación (Batlla y Benech-Arnold 2015). Para especies nativas en general, la respuesta de la germinación a diferentes regímenes de temperaturas son pocos conocidas. Actualmente existe un gran interés en el estudio de estas especies dado que su cultivo presenta frecuentemente ventajas, respecto a las no nativas, tales como no requerir agua o fertilización adicional y/o un menor control de plagas y enfermedades. Por otro lado, se reduce el riesgo de la introducción de especies que puedan volverse invasoras (Torres *et al.* 2008). A estos aspectos, interesantes a los fines de conservación o preservación del medio ambiente, se suman los potenciales usos alimenticios, ornamentales, medicinales, entre otros (Barboza *et al.* 2009, D'Alfonso y Scaramuzzino 2018, Eynard *et al.* 2017).

Particularmente el género sudamericano *Rhodophiala* C. Presl (Amaryllidaceae) incluye especies herbáceas y bulbosas que tienen gran valor potencial como medicinas

nales (Lizama-Bizama *et al.* 2018, Noguera Serrano *et al.* 2017) y algunas de ellas se cultivan como ornamentales (Hurrell y Roitman 2009). Este uso se sustenta en sus floraciones con atractivos colores, la rusticidad y la adaptabilidad a condiciones con ciertas restricciones climáticas y edafológicas. La mayoría de las especies de este género se distribuyen en Chile (Hurrell y Roitman 2009). En la Argentina se encuentra representado sólo por 2 especies: *R. mendocina* (Phil.) Ravenna que se encuentra en Chubut, La Pampa, Mendoza, Neuquén, Río Negro y San Juan, y *R. bifida* (Herb.) Traub. hallada en Buenos Aires, Corrientes, Entre Ríos y Misiones y en Brasil, Paraguay y Uruguay (Zuloaga *et al.* 2019).

*Rhodophiala bifida* (azucenita del campo) es una hierba bulbosa, con hojas lineares, subcarnosas, que aparecen después de la floración. Florece a fines de verano y principios de otoño, sus vistosas flores con tépalos rojo carmín, rojo bermellón, rojo vinoso, purpúreos, rosados o blancos, dispuestos en inflorescencias con hasta siete flores (Hurrell y Roitman 2009). Estas características le confieren valor ornamental, y por esta razón se la cultiva (Dimitri 1987). Además, sus bulbos contienen alcaloides, entre ellos presenta montanina a la que se le atribuye actividad antimicrobiana y otras propiedades de interés farmacológico (Castilhos *et al.* 2007, Reis *et al.* 2019). Se reproduce por semillas que son dispersadas por el viento (Hurrell y Roitman 2009). Cada fruto (cápsula con tres lóculos) contiene numerosas semillas, aproximadamente 80 a 90 y con peso de 100 semillas relativamente alto (Echeverría y Alonso 2010). Éstas son planas, oblicuamente aladas, de color castaño oscuro a negras, brillosas, de contorno deltoide (Echeverría y Alonso 2010, Hurrell y Roitman 2009).

Aunque la multiplicación por bulbos ha sido el método utilizado para la obtención de plantas para su cultivo (Dimitri 1987), en los últimos años se ha probado hacerlo por semillas (Echeverría y Alonso 2010, Hurrell y Roitman 2009). De este modo se protegen las poblaciones naturales de esta especie nativa, que al menos en la provincia de Buenos Aires, ha sido considerada vulnerable (Delucchi 2006).

La propagación agámica y sexual de algunas especies de este género, entre ellas *R. bifida*, han sido objeto de diversos estudios (Echeverría y Alonso 2010, Maritano *et al.* 2008, Noguera Serrano *et al.* 2017, Rosselló 2006, Rossetti *et al.* 2016), aunque los factores de la germinación no han sido analizados exhaustivamente. El objetivo del artículo es contribuir al conocimiento de las características fisiológicas básicas de la germinación y perduración de semillas de *Rhodophiala bifida*.

## MATERIALES y MÉTODOS

**Material estudiado y unidad experimental:** Las semillas de *Rhodophiala bifida* se recolectaron durante marzo de 2017 y abril de 2018 en un campo colindante a la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional del Centro de la provincia de Buenos Aires (S 36° 45' 990" O 59° 52' 971"). Este sitio está ubicado en Azul, provincia de Buenos Aires, dentro de la región denominada Pampa Deprimida. Ha sido caracterizado como una planicie deprimida con geoformas de relieve positivo (lomas), con presencia de tosca calcárea a diferentes profundidades del perfil del suelo; el tipo de vegetación dominante es el flechillar (Valicenti y Cachena 2018). Los ejemplares de *R. bifida* fueron identificados (Fabris 1969,

Hurrell y Roitman 2009) y depositados en el herbario FAA (Facultad de Agronomía de Azul) (Thiers 2020) según los registros 9515 y 10020.

Luego de la recolección de las semillas, se completó el secado distribuyendo las cápsulas en una mesada sobre papel madera, trillándolas una vez abiertas y dejándolas al aire por una semana. Para las semillas a evaluar su germinación luego de un año de su producción, ante la falta de información publicada sobre las condiciones y naturaleza específica, se optó conservarlas durante ese período a una temperatura no fluctuante y reproducible (heladera a 10 °C) con la humedad alcanzada en las condiciones estacionales y en tubos polistores de 1,3 cm x 3,5 cm y dentro de doble bolsa de polietileno transparente.

Los ensayos de germinación se realizaron en cajas de Petri plásticas en las que se colocaron 50 semillas sin hidratar ni desinfectar previamente, descartándose aquellas semillas de consistencia papiráceas como evidencia de su condición de semilla vacía. La siembra se realizó sobre una hoja de papel de filtro y cuatro hojas de papel toalla, humedecidas con 4 ml de agua destilada. A los fines de evitar la desecación, cada caja fue colocada individualmente dentro de un envase plástico transparente con tapa sobre una gomaespuma impregnada en agua. Los envases plásticos luego fueron colocados de a pares en bandejas plásticas con agua y envueltas con bolsas de polietileno transparentes, con el fin de preservar humedad próxima a la saturación y contribuir en el mantenimiento de la temperatura (Figura 1).



*Figura 1: Sistema de incubación para preservar la humedad y mantener la temperatura. Se puede observar la caja de Petri, conteniendo las semillas, apoyada sobre gomaespuma embebida en agua dentro de un envase plástico con tapa. Los envases, además, se colocaron de a pares en bandejas con agua y ésta dentro de una bolsa transparente de polietileno.*

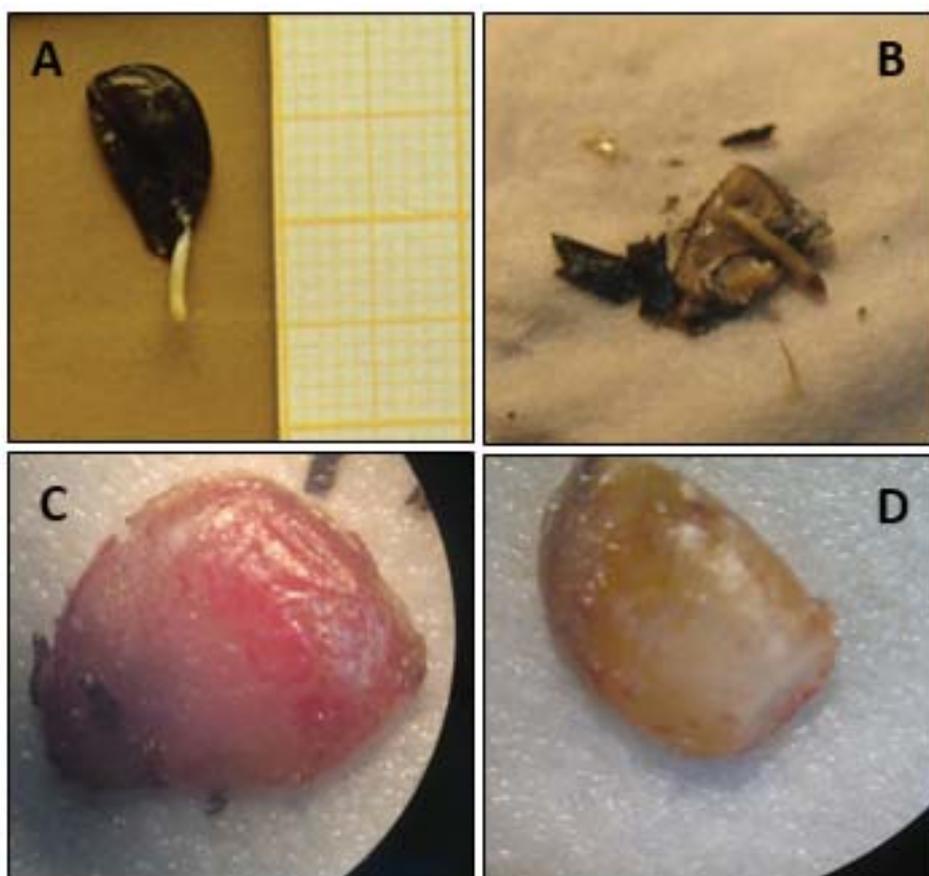
*Figure 1: Incubation system to preserve humidity and keep temperature. Inside a plastic container with top the Petri dish, containing the seeds, lied over foam rubber soaked in water. Two containers were placed in trays with water and this inside a transparent poly bag.*

**Germinación a diferentes temperaturas y tratamiento luz/oscuridad:** se realizó con las semillas recolectadas en 2017, iniciando la experiencia 7 días después de su recolección. Las temperaturas impuestas fueron de: 7; 14; 19; 25; 28 y 33 °C (+/- 1 °C), y el fotoperíodo fue de 12 horas de luz blanca, suministrada por tubos fluorescentes. Las temperaturas y el fotoperíodo se verificaron dentro de las cámaras, estufas y heladeras de cultivo, en forma puntual en cada momento de muestreo (mediante termómetros de mercurio) y seguidos en forma horaria, durante períodos de al menos cinco días, mediante dispositivos data-logger (METEO Cavadevices). Se incluyó un tratamiento de oscuridad continua y 19 +/- 1 °C (T19\*). En éste la siembra fue realizada bajo luz verde, las cajas envueltas en papel aluminio y los envases plásticos cubiertos con polietileno negro de 4 micrones para su incubación. Todos los tratamientos se realizaron con cuatro repeticiones.

**Germinación de semillas frescas y de un año de edad:** se realizó con semillas recolectadas en dos cosechas: 2017 y 2018. Las de 2017 se utilizaron en estado fresco, con 7 días desde la cosecha (2017a), y luego de un año de almacenamiento en heladera a 10 °C (2017b). Las semillas de 2018 se utilizaron en estado fresco, contando con poco más de dos semanas de recolectadas al momento de iniciar la prueba. El ensayo de germinación se condujo de la misma manera que los ensayos de 2017, con 4 repeticiones de 50 semillas en cajas de Petri sobre cuatro papeles toalla y uno de filtro, agregados 4 ml de agua destilada y colocadas en envases plásticos con gomaespuma y agua. La temperatura de incubación fue a 19 +/- 1 °C y con fotoperíodo de 12 horas.

**Mediciones:** En el ensayo a diferentes temperaturas con iluminación se realizó un seguimiento de la germinación en el tiempo. Al tratamiento de oscuridad (T19\*) no se le hizo seguimiento en el tiempo y se dio por concluido cuando finalizó el tratamiento de 19 °C a luz. La frecuencia de los muestreos fue cada 3 días para los dos tratamientos con temperaturas extremas. Para el resto de los ensayos en diferentes temperaturas y el ensayo de semillas frescas, y de un año de edad de colectadas, se realizaron registros diarios hasta el inicio de la germinación y a partir de ese momento se intensificaron los registros cada 12 horas, aproximadamente. Las mediciones se dieron por finalizadas cuando la germinación se consideró total (100 % o sólo semillas con evidencias claras de putrefacción) o, alternativamente, cuando no se registró ningún caso de germinación a las 60 horas del último muestreo.

Una vez finalizado cada tratamiento se completaron los resultados de número de semillas germinadas (G) (Figura 2.A) con una inspección de aquellas que no lo hicieron. A las semillas no germinadas se las clasificó, siguiendo los criterios generales del ISTA (2006), en los siguientes estados seminales: vacías (V), muertas (M) (Figura 2.B) y firmes a la presión, diferenciándolas entre rojizas (Fr) y blancas (Fb) (Figura 2.C y D, respectivamente) según la coloración de la superficie del endosperma, observación realizada luego de ser retiradas las cubiertas seminales. Con estos datos se calcularon los porcentajes de cada estado final seminal (%G; %Fb; %Fr y %M) sobre un total que excluyó las semillas vacías. También se calculó el porcentaje de la germinación acumulada en el tiempo (%Gt).



*Figura 2: Aspecto de las semillas de R. bifida. Estados encontrados al finalizar los tratamientos: Semilla germinada (A); semillas muertas (B), semilla firme y roja (C) y semilla firme y blanca (D).*  
*Figure 2: Appearance of R. bifida seeds. States found at the end of the treatments: Germinated seed (A); dead seeds (B), firm red seed (C) and firm white seed (D).*

**Manejo y Análisis de datos:** los porcentajes finales de estados seminales fueron analizados mediante ANOVAS y los tratamientos comparados mediante la prueba de LSD Fisher, luego de ser normalizados apropiadamente (Sokal y Rohlf 1986) y verificada la homocedasticidad. Para cada unidad experimental los %Gt se ajustaron en función del tiempo (T) mediante la siguiente función:  $\%Gt = A \cdot (1 - 1 / (1 + (T/B)^k))$ . El significado biológico de los parámetros correspondió a: Porcentaje Máximo de Germinación (parámetro A); Tiempo Medio de Germinación (parámetro B) y el valor adimensional de la Uniformidad en la Germinación (parámetro K). Los valores de los parámetros obtenidos fueron analizados mediante ANOVA y contrastados mediante la prueba de LSD Fisher ( $\alpha \leq 0.05$ ). A partir de los Tiempos Medios de Germinación (B) obtenidos en cada temperatura, se estimó la temperatura base (Tb) de la germinación y el Tiempo Térmico requerido para completar la germinación (TTg). Los parámetros obtenidos fueron analizados mediante un ANOVA y contrastados con la prueba LSD Fisher ( $\alpha \leq 0.05$ ). Todos los procedimientos estadísticos se realizaron con el programa InfoStat (Di Rienzo *et al.* 2019).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### *Germinación a diferentes temperaturas y tratamiento luz/oscuridad*

En ninguna de las temperaturas empleadas se evidenciaron problemas sanitarios destacables, registrándose al final de la experiencia porcentajes de germinación (%G) cercanos o superiores al 90 %, salvo a 33 °C, temperatura en la que fue un 10 % menor (Tabla 1). Los mayores valores de %G se registraron a 19°C tanto en luz como en

oscuridad (Tabla 1). El porcentaje relativamente alto de semillas muertas (%M) a 33 °C explicó, en parte, la menor germinación antes comentada (Tabla 1). Al comparar los resultados con los obtenidos a 20 °C por Rossetti, Rojahn y Costa (2016), bajo alternancia de temperaturas por Echeverría y Alonso (2010) y a 25 °C por Rodrigo *et al.* (2006), se observan valores similares y coincidentes, que permiten evidenciar que esta especie, en una proporción elevada de semillas y en un amplio rango de temperaturas, no presenta dificultades para la germinación, aspecto concomitante con la ausencia de dormición.

Al final del ensayo, el porcentaje de semillas aparentemente sanas, firmes y de coloración blanca (%Fb) luego de su transformación conveniente para el análisis estadístico, presentó distribución normal pero no homogeneidad de varianza. Sin embargo, la falta de un patrón visible entre los residuos y los valores predichos de esta variable alentó a continuar con el análisis de la varianza, aunque sus resultados deben ser tomados con precaución. A 33 °C se obtuvo el valor promedio más alto (8,1 %) de semillas Fb, encontrándose un valor similar sólo a 7 °C (Tabla 1). Estos valores contribuyeron, en parte, a explicar el menor porcentaje de semillas germinadas en esas temperaturas, particularmente en 7 °C. En las temperaturas de 14 y 19 °C (luz) no se hallaron semillas Fb ( $\alpha \leq 0.05$ , Tabla 1). Por otro lado, el porcentaje de semillas firmes de coloración roja-rosadas (Fr) no presentó efecto de la temperatura y sus valores fueron relativamente bajos (Tabla 1). Estas semillas presentaron el endosperma con aspecto granuloso transparente. Tanto las características de coloración y aspecto podrían corresponder a semillas con irregularidades en el grosor, que se observaron en

Tabla 1: Promedios del porcentaje de cada estado seminal obtenidos a diferentes temperaturas. Los promedios corresponden a cuatro repeticiones y entre paréntesis se especifica el desvío estándar. Letras diferentes dentro de una columna indican diferencias significativas ( $\alpha \leq 0.05$ ). %G= porcentaje de semillas germinadas; %Fb= porcentaje de semillas firmes y blancas; %Fr= porcentaje de semillas firmes y rosadas; y %M= porcentaje de semillas muertas.

Table 1: Average seminal state in percentages for each temperature. The averages correspond to four repetitions and the standard deviation is shown in parentheses. Different letter within a column indicate significant differences ( $\alpha \leq 0.05$ ). %G= percentage of germinated seeds, %Fb= percentage of firm and white seeds; %Fr= percentage of firm and pink seeds; and % M= percentage of dead seeds.

T (°C)	%G	%Fb	%Fr	%M
7	90,2 (5,7) abc	6,2 (4,1) bc	0,5 (0,7) a	3,1 (3,1) ab
14	97,2 (1,9) bc	0,0 (0,0) a	0,0 (0,0) a	2,8 (1,9) ab
19	98,4 (0,8) c	0,0 (0,0) a	1,0 (1,0) a	0,5 (0,7) a
19*	98,0 (2,0) c	1,0 (1,0) ab	0,5 (0,7) a	0,5 (0,7) a
25	89,2 (9,2) ab	1,5 (2,2) ab	2,7 (1,6) b	6,7 (4,4)bc
28	96,9 (3,1) bc	1,0 (1,5) ab	0,5 (0,8) a	1,5 (1,5) a
33	80,9 (3,1) a	8,1 (4) c	0,5 (0,8) a	10,6 (1,9) c

el momento de la siembra pero que no fueron convenientemente marcadas para su seguimiento. Por tanto, es necesario realizar otro tipo de estudio para determinar si estos estados seminales corresponden a defectos genéticos y/o de desarrollo seminal o, alternativamente a semillas capaces de germinar dentro de ciertas condiciones y dar plántulas normales.

En cuanto al porcentaje de semillas muertas (%M) el mayor valor se obtuvo en la mayor temperatura empleada (33 °C) alcanzando al 10% de las semillas (Tabla 1). Si bien esta mortalidad no es muy elevada, resulta contrastante con la termoinhibición presentada a 33 °C por *Habranthus tubispathus* (Manfreda *et al.* 2017), especie nati-

va de la misma familia con la que comparte ambientes y otras características del desarrollo, como floraciones coincidentes a fines de verano. En cuanto a la termoinhibición, ha sido propuesta como una adaptación de plantas anuales de invierno a climas con inviernos húmedos y veranos secos (Derakhshan *et al.* 2018), adaptación que impide que la germinación ocurra mientras persisten las temperaturas estivales. *R. bifida* además de carecer de esta adaptación, mostró ser perjudicada por la alta temperatura.

La germinación conducida en oscuridad a 19 °C (19\*, Tabla 1) mostró la ausencia de requerimiento de luz para la germinación, obteniéndose altos porcentajes de germinación y similares porcentajes de semilla

muertas, firmes y rojas, a los obtenidos a 19 °C con luz ( $\alpha \leq 0,05$ ; Tabla 1). Esta característica de fotoblastismo neutro fue coincidente con lo reportado por Echeverría y Alonso (2010) en semillas de *R. bifida* provenientes de Gral. Pueyrredón (Sierra de los Padres, Provincia de Buenos Aires).

El ajuste a función de la germinación acumulada para cada unidad experimental fue descrito adecuadamente por la ecuación utilizada, con menor o igual SC Error que la función de Gompertz (datos no mostrados), función frecuentemente utilizada en los estudios de dinámica de la germinación.

Los porcentajes de germinación final obtenidos por esta ecuación, en el rango entre 7 y 25 °C, no evidenciaron diferencias significativas ( $\alpha \leq 0,05$ ; Tabla 2) y tomaron valores próximos a los de su medición directa (Tabla 1). Dentro del mismo rango térmico los Tiempos Medios de Germinación estimados (parámetro B de la ecuación) presentaron efectos significativos en respuesta a la temperatura (Tabla 2), mostrando una relación inversamente proporcional con el aumento de temperatura. Se registró el mayor tiempo medio a 7 °C y el menor a 25 °C ( $\alpha \leq 0,05$ ; Tabla 2). En cuanto al parámetro K de la ecuación, dentro de este rango térmico, no mostró diferencias significativas ( $\alpha \leq 0,05$ ; Tabla 2). Este parámetro indica cuán extendida es en el tiempo la germinación, por lo tanto cuanto más homogénea y más concentrada es la germinación, mayor es el valor de K.

El parámetro B es de particular significancia para evaluar las características del desarrollo de una especie frente a la temperatura, ya que la inversa de este parámetro es un estimador de la velocidad de desarrollo. Se observó que la velocidad de germinación (Vg) en respuesta a la tempe-

ratura no se apartó del modelo general de tiempo térmico (Línea punteada, Figura 3) con una  $T_0$  que se ubicó alrededor de los 25 °C (Figura 3). Por encima de esta temperatura la Vg disminuyó abruptamente en 28 °C (Figura 3). La estimación de la  $T_b$  y del TTg, obtenidos por el ajuste lineal de la fase positiva de la respuesta (entre 7 y 25 °C, Figura 3), fueron aproximadamente de 4,83 °C y 1666 °Ch respectivamente.

Los tres parámetros de la ecuación para 28 y 33 °C fueron excluidos del análisis estadístico anterior, ya que sus valores presentaron alta variabilidad, no presentaron homogeneidad de varianzas ni distribución normal en el conjunto de los datos anteriores. Al hacer el análisis comparativo de los valores promedios de estos parámetros y sus desvíos (Tabla 2) se pudo observar que el valor de A fue menor en 33 °C que en 28 °C, mientras que los parámetros B y K fueron mayores. Esto último indica que, la temperatura aumentó la cantidad de horas para completar el 50 % de germinación y, por lo tanto, disminuyó la Vg, acompañándose con un aumento de la uniformidad en la germinación.

#### ***Germinación de semillas frescas y de un año de edad***

Todas las semillas cosechadas, tanto las frescas de 2017 (2017a) y de 2018 como las almacenadas por un año (2017b), alcanzaron valores superiores al 98 % de germinación (Tabla 3), sin mostrar efecto del año de la cosecha ni del año de almacenamiento ( $\alpha \leq 0,05$ ). La inspección de las semillas que no germinaron se correspondió fundamentalmente a su mortalidad (11 % y Desvstd = 6, dato no mostrado). Estos altos valores de germinación de semillas recientes y de un año de edad no son coin-

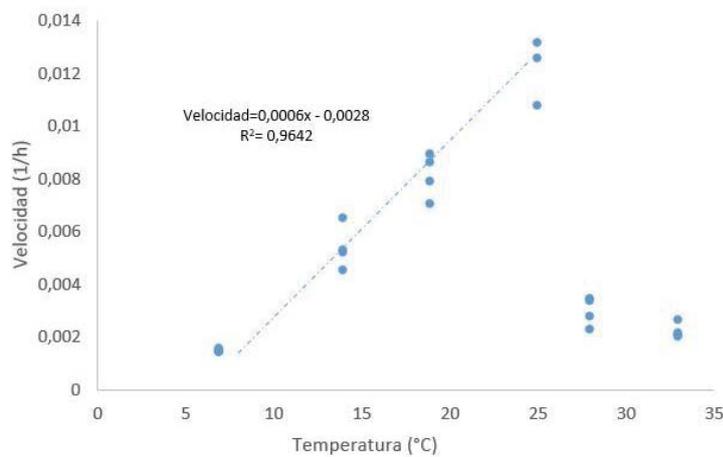
Tabla 2: Promedios de los parámetros de las curvas de germinación de *R. bifida* para cada temperatura. Los desvíos estándar que están entre paréntesis. Letras diferentes dentro de una columna indican diferencias significativas ( $\alpha \leq 0.05$ ). A=Porcentaje Máximo de Germinación (%); B=Tiem-po Medio de Germinación (h); K=Uniformidad en la Germinación; CM= Cuadrado Medio del Error.

Table 2: Average of parameters obtained from germination curves of *R. bifida* for each temperature. The standard deviation is shown in parentheses. Different letter within a column indicate significant differences ( $\alpha \leq 0.05$ ). A= Maximum Percentage of Germination; B= Means Time of Germination; K= Germination Uniformity; CM= Mean Square of the Error.

T (°C)	A (%)	B (h)	K	CM
7	91,6 (6,6) a	699,4 (22,0) d	7,4 (0,9) a	3,8
14	97,2 (2,3) a	189,3 (17,6) c	7,0 (0,8) a	8,5
19	101,0 (2,2) a	124,6 (10,2) b	4,5 (1,4) a	9,6
25	92,2 (10,7) a	75,9 (10,8) a	4,4 (2,7) a	8,9
28	98,1 (2,7)	350,4 (53,1)	3,5 (0,3)	10,7
33	84,8 (1,8)	464,8 (41,2)	5,0 (0,9)	6,8

Figura 3: Velocidad de Germinación obtenida en *R. bifida* en diferentes temperaturas. La línea punteada representa el ajuste lineal de la Velocidad en función de la Temperatura (°C) para el rango de respuesta positiva (7 a 25 °C). Se presenta la ecuación correspondiente y el coeficiente de Pearson (R2) obtenido.

Figure 3: Germination Speed obtained in *R. bifida* at different temperatures. The dotted line corresponds to represents linear fit between Speed and Temperature (°C) for the temperature range with positive relationship (7 to 25 °C). Equation and Person coefficient (R2) obtained are showed.



cidentes con los registrados por Maritano *et al.* (2008), quienes reportaron para *R. bifida* valores máximos de 85 % en semillas frescas y del 65 % en semillas de un año. La falta de coincidencia puede deberse tanto a diferencias poblacionales, condiciones de almacenamiento y/o al empleo de técnicas de desinfección. Estas últimas pueden ocasionar daño y/o deterioro de las semillas y afectar negativamente el porcentaje final de la germinación (Abdul-Baki 1974, Baskin y Baskin 2014, Ponzio 1998). Este aspecto fue identificado por Noguera Serrato *et al.* (2017) en *R. mendocina* donde evidenciaron mayores porcentajes de germinación en semilla sin desinfectar, embebidas y en oscuridad.

En cuanto a los ajustes obtenidos a la curva de germinación, los parámetros A y K no presentaron efecto de la edad ni del año de cosecha (Tabla 3). El parámetro B mostró, por un lado, que el almacenamiento por un año redujo significativamente en 20 h

el tiempo medio de germinación ( $\alpha \leq 0,05$ ; Tabla 3). Por otro lado, mostró diferencias significativas según el año de cosecha, siendo menor en 2018 que en 2017 ( $\alpha \leq 0,05$ ; Tabla 3). Mientras que la primera diferencia puede relacionarse con una posible posmaduración de las semillas, la obtenida entre diferentes años de cosechas es posible atribuirles a efectos maternos. Ya que son múltiples las condiciones ambientales durante la formación de las semillas que pueden afectar la germinación, tales como la nutrición parental (Fenner 1986, Marshall 1986, Parrish y Bazzaz 1985, Stratton 1989), el nivel hormonal (Guterman 1980), el estrés por sequía (Sawhney y Naylor 1980), la longitud del día y la calidad de la luz (Guterman 1980), y la temperatura (Alexander y Wulff 1985) no fue posible identificar uno en particular que justifique las diferencias encontradas en el Tiempo Medio para las semillas en estudio.

Tabla 3: Promedios de los porcentajes de germinación (%G) y de los parámetros de la curva de ajuste (A, B y K, ver leyenda de Tabla 2 y Materiales y Métodos) para semillas frescas (2017a y 2018) y luego de un año de almacenaje a 10°C (2017b). Los desvíos estándar se presentan entre paréntesis. Letras diferentes dentro de una columna indican diferencias significativas ( $\alpha \leq 0.05$ ).

Table 3: Mean values of gemination percentages (%G) and average of parameters of curves (A, B and K, shown in table 2 and Material and Methods) for fresh seeds (2017a and 2018) and after one year of storage at 10°C (2017b). The standard deviation is shown in parentheses. Different letter within a column indicate significant differences ( $\alpha \leq 0.05$ ).

Año	%G	A (%)	B (h)	K	CME
2017 <sup>a</sup>	98,4 (0,8) a	101,0 (2,2) a	124,6 (10,2)c	4,5 (1,4) a	9,6
2017 <sup>b</sup>	98,9 (1,1) a	100,1(1,2) a	106,4 (3,9) b	7,1 (1,5) a	5,2
2018	98,5 (0,8) a	98,6 (2,1) a	81,7 (3,5) a	6,9 (1,4) a	8,1

## CONCLUSIONES

Las semillas de *R. bifida* evidenciaron porcentajes de germinación alrededor del 90% en temperaturas de 7, 14, 19, 25 y 28 °C. Los mayores porcentajes se obtuvieron a 19 °C, tanto en luz como en oscuridad. El menor valor de %G se obtuvo a 33 °C, y coincidió, por un lado con el aumento de la mortalidad y, por otro lado, con un mayor porcentaje de semillas firmes y blancas.

La dinámica de germinación de *R. bifida*, en todos los tratamientos, pudo ser descrita adecuadamente con la función utilizada, dando base uno de sus tres parámetros a la estimación de la velocidad de germinación. Esta última respondió linealmente a la temperatura en el rango de 7 y 25 °C, disminuyendo abruptamente a 28 y 33 °C. En base a esta respuesta lineal se estimó la Tb y el TTg, siendo de 4,83 °C y 1666 °Ch respectivamente.

Luego de un año de almacenamiento las semillas de *R. bifida* no presentaron dificultad en la germinación, y se obtuvieron valores cercanos al 100 %. Sin embargo, el Tiempo Medio de Germinación disminuyó en 20 h respecto a las recientemente cosechadas, siendo también afectado significativamente por el año de cosecha, por lo que se evidencia una modificación de su calidad fisiológica y no se descarta un efecto materno. Los altos porcentajes de germinación en un amplio rango de temperaturas, la ausencia de problemas sanitarios, de dormición y de termoinhibición en las temperaturas superiores, el fotoblastismo neutro, la buena longevidad fueron las principales características de la fisiología de la germinación de las semillas de *R. bifida* evidenciadas por este trabajo.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abdul-Baki AA. 1974. Hypochlorite and tissue sterilization. *Planta*.115(4): 373-376.
- Alexander HM, Wulff RD. 1985. Experimental ecological genetics in *Plantago*: X. The effects of maternal temperature on seed and seedling characters in *P. lanceolata*. *The Journal of Ecology*. 271-282.
- Barboza GE, Cantero JJ, Nuñez C, Paccioaroni A, Ariza Espinar L. 2009. Plantas medicinales: revisión y “screening” fitoquímico y etnofarmacológico de la flora nativa de Argentina. *Kurtziana*. 34(1-2): 7-365.
- Baskin CC, Baskin JM. 2014. *Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination*, 2nd ed. San Diego, CA, USA: Academic Press.
- Batlla D, Benech-Arnold RL. 2015. A framework for the interpretation of temperature effects on dormancy and germination in seed populations showing dormancy. *Seed Science Research*. 25(2): 147-158.
- Benech-Arnold RL, Sanchez RA. 2004. *Handbook of seed physiology: Applications to agriculture*. New York: Food Products Press and The Haworth Reference Press, imprints of The Haworth Press.
- Bevington J. 1986. Geographic differences in the seed germination of paper birch (*Betula papyrifera*). *American Journal of Botany*. 73(4): 564-573.
- Bewley JD. 1997 Seed germination and dormancy. *Plant Cell*. 9, 1055–1066.
- Bewley JD, Black M. 1994. *Seeds: Physiology of development and germination*. New York: Plenum Press.
- Castilhos TS, Giordani RB, Henriques AT, Menezes FS, Zuanazzi JÂS. 2007. Avaliação in vitro das atividades antiinflamatória, antioxidante e antimicrobiana do alcaloide montanina. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 17(2): 209-214.

- Chaisurisri K, Edwards DGW, El-Kassay YA. 1992. Genetic control of seed size and germination in Sitka spruce. *Silvae Genet.* 41: 348-355.
- D'Alfonso CO, Scaramuzzino RL. 2018. Plantas nativas silvestres potencialmente comestibles de ambientes rurales y urbanos del centro de Buenos Aires. *Horticultura Argentina.* 37 (93): 5-22.
- Dantas BF, da Silva RDCB, Ribeiro RC, Aragão CA. 2015. Respiration and antioxidant enzymes activity in watermelon seeds and seedlings subjected to salt and temperature stresses. *American Journal Agriculture.* 7: 70-77.
- Delucchi G. 2006. Las especies vegetales amenazadas de la Provincia de Buenos Aires: Una actualización. *APRONA Bol. Cient.* 39: 19-31.
- Derakhshan A, Bakhshandeh AM, Siadat SA, Moradi TMR, Andarzian B. 2018. Quantification of thermos-inhibition response of seed germination in different oilseed rape cultivars. *Environmental stresses in crop sciences.* 9: 459-469. Derakhshan, 2017. *Environmental Stresses in Crop Sciences,* 11: 459-469.
- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. 2019. *InfoStat versión 2019.* Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Dimitri MJ. 1987. Amarilidaceas. En Parodi LR, editor. *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería,* 3ra edición. Dimitri MJ, actualizador. Buenos Aires: Ed. ACME. Vol. 1. p. 245-260 y 590-591.
- Dorne AJ. 1981. Variation in seed germination inhibition of *Chenopodium bonus-henricus* in relation to altitude of plant growth. *Canadian Journal of Botany.* 59(10): 1893-1901.
- Echeverría ML, Alonso SI. 2010. Germinación y crecimiento inicial de *Habranthus gracilifolius* y *Rhodophiala bifida*, amarilidáceas nativas con potencial ornamental. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias.* 42(1): 23-37.
- Eynard C, Calviño A, Ashworth L. 2017. Cultivo de plantas nativas. *Propagación y viverismo de especies de Argentina central.* Córdoba, Argentina: Editorial de la UNC.
- Fabris HA. 1969. Amaryllidaceae. En: Cabrera AL, editor. *Flora de la Provincia de Buenos Aires.* Colección Científica INTA. 4 (1): 520-538.
- Fenner M. 1986. The allocation of minerals to seeds in *Senecio vulgaris* plants subjected to nutrient shortage. *The Journal of Ecology.* 74 (2): 385-392.
- Filho M. 2015. Seed vigor testing: an overview of the past, present future perspective. *Scientia Agricola.* 72: 363-374.
- Guterman Y. 1980. Influences on seed germinability: phenotypic maternal effects during seed maturation. *Israel Journal of Plant Sciences.* 29 (1-4): 105-117.
- Hurrell J, Roitman G. 2009. *Rhodophiala.* En: Hurrell J, editor. *Flora Rioplatense. Parte 3: Monocotiledóneas. Vol. 4 (Asparagales, Dioscoriales, Liliales).* Buenos Aires: Editorial L.O.L.A. p. 424.
- ISTA. 2006. *International rules for seed testing 2006. Rules 2006.* Seed Science and Technology. 13: 299-355.
- Lindow L, Galindez G, Sührling S, Ortega-Baes P. 2017. Efecto del régimen de temperaturas sobre las temperaturas cardinales y el tiempo térmico en dos especies de cactáceas del Noroeste Argentino. Póster presentado en: XXXVI Jornadas Argentinas de Botánica y XXVII Reunión Anual de la Sociedad Botánica de Chile. Mendoza, Argentina.

- Lizama-Bizama I, Pérez C, Baeza CM, Uriarte E, Becerra J. 2018. Alkaloids from Chilean species of the genus *Rhodophiala* C. Presl (Amaryllidaceae) and their chemotaxonomic importance. *Gayana. Botanica*. 75(1): 459-465.
- Manfreda VT, Acosta MC, Scaramuzzino R. 2017. Características básicas de la germinación de *Habranthus tubispathus* (L'Hér.) Traub (Amaryllidaceae). Presentado en: XXXVI Jornadas Argentinas de Botánica y XXVIII Reunión Anual de la Sociedad Botánica de Chile. 52 (Suplemento): 203-203. Mendoza. Argentina.
- Mayer AM, Poljakoff-Mayber A. 1982. *The Germination of Seeds*: Pergamon International Library of Science, Technology, Engineering and Social Studies. Elsevier.
- Maritano PF, Pérez de la Torre MC, Marinangeli PA, Escandón AS. 2008. Ensayos preliminares para el estudio de una amarilidácea nativa con potencial ornamental. Cultivo in vitro y caracterización molecular de *Rhodophiala bifida* (Herb.) Traub. Publicado en: IV Congreso Argentino de Floricultura y 10a Jornadas Nacionales de Floricultura. INTA, Buenos Aires, Argentina.
- Marshall DL. 1986. Effect of seed size on seedling success in three species of *Sesbania* (Fabaceae). *American Journal of Botany*. 73(4): 457-464.
- McDonald MB, Copeland LO. 1999. *Seed science and technology*. New York: Springer Science+Business Media.
- Noguera Serrano SP, Zaragoza Puchol JD, Ferrésin GE. 2017. Estudio para la propagación (agámica y sexual) de *Rhodophiala mendocina* (Phil.) Ravenna. Publicado en: Asociación Argentina de Horticultura. Horticultura Argentina. Argentina. URI: <http://hdl.handle.net/11336/86076>.
- Parrish JAD, Bazzaz FA. 1985. Nutrient content of *Abutilon theophrasti* seeds and the competitive ability of the resulting plants. *Oecologia*. 65(2): 247-251.
- Pegtel DM. 1985. Germination in populations of *Solanum dulcamara* L. from contrasting habitats. *New phytol.* 100(4): 671-679.
- Ponzio KJ. 1998. Effects of various treatments on the germination of sawgrass, *Cladiumjamaicense* Crantz, seeds. *Wetlands*. 18(1): 51-58.
- Reis A, Magne K, Massot S, Tallini LR, Scopel M, Bastida J, Ratet P, Zuanazzi JA. 2019. Amaryllidaceae alkaloids: identification and partial characterization of montanine production in *Rhodophiala bifida* plant. *Scientific reports*. 9(1): 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44746-7>
- Rodrigo JM, Rosselló FJ, Marinangeli PA, Curvetto NR. 2006. Germinación in vitro de *Rhodophiala bifida*. Publicado en: III Congreso Argentino de Floricultura. VIII Jornadas Nacionales de Floricultura. P (Vol. 45). La Plata, Buenos Aires, Argentina.
- Rosselló FJ, Marinangeli PA, Rodrigo JM, Curvetto NR. 2006. Propagación vegetativa de *Habranthus tubispathus* Herb. (Amarilidaceae). Publicado en: Congreso Argentino de Floricultura. 3. Jornadas Nacionales de Floricultura. La Plata, Buenos Aires, Argentina.
- Rossetti C, Rojahn F, Costa C. 2016. Condições de substrato e temperatura para condução do teste de germinação de sementes de *Rhodophiala bifida*. Publicado en: Embrapa Clima Temperado-Artigo emanais de congresso (ALICE). In: Encontro de iniciação científica e pós-graduação da embrapa clima temperado. Ciência: Empreendedorismo e inovação: anais. Pelotas, Brasil.

- Sawhney R, Naylor JM. 1980. Dormancy studies in seed of *Avena fatua*. 12. Influence of temperature on germination behaviour of nondormant families. *Canadian Journal of Botany*. 58(5): 578-581.
- Shaban M. 2013. Review on physiological aspects of seed deterioration. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*. 6: 627-631.
- Sokal RR, Rohlf FJ. 1986. *Introducción a la Bioestadística*. España: Reverté.
- Stratton DA. 1989. Competition prolongs expression of maternal effects in seedlings of *Erigeron annuus* (Asteraceae). *American Journal of Botany*. 76(11): 1646-1653.
- Thiers B. 2020. *Index Herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff*. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. <http://sweetgum.nybg.org/ih>. (Consulta 31/03/2020).
- Torres YA, Long MA, Zalba SM. 2008. Reproducción de *Pavonia cymbalaria* (Malvaceae), especie nativa con potencial ornamental. *Phyton* (Buenos Aires). 77: 151-160.
- Valicenti RO, Cachena L. 2018. Cambios en la vegetación de un Flechillar a causa de la labranza de una franja cortafuegos. *Revista de la Asociación Argentina de Ecología de Paisajes*. 8(1): 17-26.
- Zuloaga FO, Belgrano M J, Zanotti CA. 2019. Actualización del Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur. *Darwiniana*, nueva serie. 7(2): 208-278 (con apéndices).