

Recibido 02 de abril de 2019 // Aceptado 26 de noviembre de 2019 // Publicado online 02 de junio de 2021

# Germinación de dos especies de *Rhynchosia* (Fabaceae) nativas de Argentina central útiles para la restauración productiva de pastizales naturales

MILANO, C.<sup>1</sup>; TIZÓN, F.R.<sup>2</sup>; PELÁEZ, D.V.<sup>1,3</sup>; MARTÍNEZ, L.C.<sup>4</sup>; RIBET, A.<sup>4</sup>

## RESUMEN

Los pastizales naturales del sudoeste de la provincia de Buenos Aires (Argentina) están degradados como resultado del sobrepastoreo y de la expansión de la agricultura, que han generado un fuerte impacto en la biodiversidad e integridad del ecosistema. La restauración productiva propone reincorporar especies nativas a zonas degradadas para restaurar funciones ecológicas claves y a la vez generar beneficios socioeconómicos y productivos. Las leguminosas (Fabaceae) son un grupo funcional particularmente útil ya que presentan múltiples características de interés agronómico, como la capacidad de fijar nitrógeno, la calidad forrajera y su potencial melífero, entre otras. Sin embargo, la información acerca del cultivo y utilización de leguminosas herbáceas nativas del centro de Argentina es prácticamente inexistente. El conocimiento de la dormición seminal en estas especies y de los tratamientos pregerminativos para interrumpirla constituyen un primer paso fundamental para su utilización. El objetivo de este estudio fue evaluar diferentes tratamientos pregerminativos para la germinación de *Rhynchosia bicentrica* (Rb) y *R. senna* (Rs), dos especies de leguminosas herbáceas nativas con potencialidad para utilizarse en la restauración de pastizales naturales degradados. Los tratamientos ensayados fueron escarificación física manual y mecánica, escarificación térmica por inmersión en agua y por exposición a aire caliente a diferentes temperaturas y escarificación química con ácido sulfúrico. Los resultados obtenidos indican que ambas especies necesitan tratamientos pregerminativos que rompan la cubierta seminal para iniciar la germinación, ya que presentaron porcentajes de dormición seminal física de  $90 \pm 5,6\%$  (Rb) y  $60,8 \pm 13,5\%$  (Rs). Los tratamientos de escarificación física manual y mecánica fueron efectivos para aumentar el poder germinativo respecto del control en ambas especies. Para Rb también fue efectiva la escarificación térmica por exposición a agua o aire a temperatura constante de 60 y 70 °C por una hora. Para Rs también fue efectiva la escarificación térmica por exposición a agua a temperatura constante de 70 °C por 30 minutos. Discutimos algunas ventajas y desventajas asociadas a los métodos ensayados y proponemos enfatizar en alternativas que sean aplicables a escalas mayores que las experimentales, destacando la escarificación física a través de escarificadores mecánicos y los tratamientos de exposición a aire caliente.

**Palabras clave:** *Rhynchosia bicentrica*, *Rhynchosia senna*, leguminosas, restauración productiva, dormición física, tratamientos pregerminativos.

<sup>1</sup>Universidad Nacional del Sur, Departamento de Agronomía, Bahía Blanca (8000), Buenos Aires, Argentina.

Correo electrónico: milanoclara@yahoo.com.ar

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Bordenave, Agencia de Extensión Rural (AER) Bahía Blanca, San Andrés 800 (8000), Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Universidad Nacional del Sur, Departamento de Agronomía, Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires y Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS, CONICET).

<sup>4</sup>Universidad Nacional del Sur, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia.

## ABSTRACT

The natural grasslands of southwestern Buenos Aires province (Argentina) are degraded as a result of overgrazing and the expansion of agriculture, which have generated a strong impact on biodiversity and ecosystem integrity. Productive restoration proposes the reincorporation of native species to degraded areas to restore key ecological functions and at the same time generate socio-economic and productive benefits. Legumes (Fabaceae) are a particularly useful functional group since they have multiple characteristics of agronomic interest, such as their ability to fix nitrogen, their forage quality and their meliferous potential, among others. However, information about the cultivation and use of native herbaceous legumes from central Argentina is practically non-existent. Knowledge on seminal dormancy in these species and the pregerminative treatments needed to interrupt it constitute a fundamental first step for its use. The objective of this study was to evaluate different pregerminative treatments for the germination of *Rhynchosia bicentrica* (Rb) and *R. senna* (Rs), two native herbaceous legumes species with potential to be used in the restoration of degraded grasslands. The treatments tested were manual and mechanical physical scarification, thermal scarification by immersion in water and by exposure to hot air at different temperatures and chemical scarification with sulfuric acid. The obtained results indicate that both species need pregerminative treatments that break the seminal cover to initiate the germination, since they presented percentages of physical seminal dormancy of  $90 \pm 5.6\%$  (Rb) and  $60.8 \pm 13.5\%$  (Rs). The manual and mechanical physical scarification treatments were effective to increase the germinative power with respect to the control in both species. For Rb, thermal scarification by exposure to water or air at constant temperature of 60 and 70°C for one hour was also effective. For Rs, thermal scarification was also effective by exposure to water at constant temperature of 70°C for 30 minutes. We discuss some advantages and disadvantages associated with the tested methods and we propose to emphasize alternatives that are applicable to scales greater than the experimental ones, highlighting the physical scarification through mechanical scarifiers and hot air exposure treatments.

**Keywords:** *Rhynchosia bicentrica*, *Rhynchosia senna*, legumes, productive restoration, physical dormancy, pregerminative treatments.

## INTRODUCCIÓN

Los pastizales naturales del sudoeste de la provincia de Buenos Aires, al igual que los de otras zonas áridas y semiáridas de Argentina, están degradados como resultado del sobrepastoreo y de la expansión de la agricultura a zonas de baja o nula aptitud agrícola (Krüger *et al.*, 2013) y han perdido una parte importante de su biodiversidad original (Distel, 2016). Esta situación afecta tanto a la integridad del ecosistema como a la principal actividad productiva de la región, que es la cría de ganado vacuno sobre pastizales naturales (Peláez, 2012). La restauración productiva prioriza la reintroducción de aquellas especies nativas que además de valor ecosistémico tengan un valor socioproductivo, promoviendo al mismo tiempo la conservación y el valor comercial, productivo y sociocultural del paisaje (Ceccon, 2013). Los miembros de la familia Fabaceae (leguminosas) son un grupo funcional clave para la restauración ya que además de enriquecer las comunidades vegetales y mejorar la oferta forrajera permiten recuperar fertilidad a través del proceso de fijación biológica de nitrógeno (FBN), por lo que son estudiadas en diversas partes del mundo (Basconsuelo *et al.*, 2013).

Los reportes de la abundancia histórica de leguminosas en pastizales del sudoeste bonaerense son escasos y anecdóticos (por ejemplo, Holmberg, 1884). Sin embargo,

hay estudios que indican que las gramíneas forrajeras eran dominantes en los pastizales semiáridos de esta región (Gallego *et al.*, 2004). El sobrepastoreo modificó la abundancia relativa de las especies, desplazando la comunidad hacia un estado con dominancia de especies no palatables (Distel, 2016). Si el pastoreo excesivo sobre gramíneas palatables provocó su reducción casi total en estos pastizales, es probable que lo mismo haya ocurrido con grupos igualmente o más palatables, como las leguminosas.

La información disponible sobre el cultivo de especies nativas es escasa, particularmente para zonas áridas y semiáridas (Beider, 2012). Muchas de las semillas silvestres de estas especies presentan dormición seminal, que consiste en estados fisiológicos o morfológicos particulares que evitan la germinación prematura o en condiciones desfavorables (Fenner y Thompson, 2005). Las leguminosas se caracterizan por presentar dormición seminal física (Baskin y Baskin, 2014), con grados variables dependiendo de las condiciones ambientales a las que estuvo sometida la planta madre durante el desarrollo de las semillas (Baskin y Baskin, 1998). Además de la dormición física, existen otros tres tipos de dormición que se presentan en leguminosas de importancia agropecuaria y son la dormición embrionaria, la impuesta por los frutos y la imbibición lenta (Taylor, 2005). La ruptura de la dormición física se da cuan-

do las condiciones ambientales o los tratamientos pregerminativos generan la ruptura de la capa impermeable que rodea a la semilla (Baskin y Baskin, 2000). En la naturaleza, los factores que inducen la interrupción de la dormición incluyen temperaturas altas o ampliamente fluctuantes, fuego, desecación, congelamiento y descongelamiento y el paso por el tracto digestivo de animales (Baskin y Baskin, 1998). Cuando se desea cultivar una especie, la dormición seminal debe interrumpirse para que la semilla pueda germinar en el momento deseado y esto se logra a través de la aplicación de tratamientos pregerminativos (Varela y Aparicio, 2011) o mediante un proceso de selección dirigida de mediano plazo. La segunda opción, sin embargo, presenta una desventaja para la planta, ya que pierde a la dormición seminal como estrategia de supervivencia. Después del primer año y una vez establecido el cultivo, especialmente si se trata de una pastura perenne, la dureza de la cubierta seminal es de extrema importancia para el mantenimiento de un banco de semillas activo, cuya estabilidad en el tiempo es mantenida por la resiembra natural (Medeiros y Nabinger, 1996 *vide* Dias *et al.*, 2004).

*Rhynchosia* Lour. es un género con aproximadamente 230 especies (Sprent y Gehlot, 2010), con al menos 52 especies nodulantes (De Faria *et al.*, 1989) y 8 especies presentes en Argentina (Cabrera y Añón Suárez, 1967). En el centro de Argentina habitan dos de estas especies, *Rhynchosia bicentrica* B.L. Turner y *Rhynchosia senna* Gillies ex Hook. Son hierbas perennes, trifoliadas, de desarrollo primavera-verano y crecimiento postrado o postrado-ascendentes, de entre 20 y 100 cm. *R. bicentrica* es nativa tanto en Norteamérica, donde ocurre en México como especie poco frecuente, como en Sudamérica (Turner, 2012), en el sur de Brasil, Uruguay, Paraguay, Bolivia y Argentina, hasta el SO de la provincia de Buenos Aires, creciendo en pastizales, campos secos y cultivos (Mas *et al.*, 2010), especialmente presente en las zonas serranas de la provincia de Buenos Aires. *R. senna* además se encuentra presente en Ecuador, Perú, México y el sur de Estados Unidos (Groom, 2012). Habita una gran variedad de hábitats incluyendo campos y pastizales en La Pampa, suelos secos o arenosos (Groom, 2012), y pasturas cultivadas. Rebrotan a fines de octubre, florece en noviembre y fructifica de diciembre a finales de febrero, permaneciendo verde todo el verano y entrando en reposo en abril (Chirino *et al.*, 1988; Fagúndez *et al.*, 2016). Ambas especies son forrajeras (Chirino *et al.*, 1988; Izaguirre, 2005), melíferas (Fagúndez *et al.*, 2016) y medicinales (Martínez-Crovetto, 1968; Orfila y Farina, 2002; Goleniowski *et al.*, 2006; Toribio *et al.*, 2007; Martínez-Crovetto, 2014; Scarpa *et al.*, 2016). Estas características, sumadas a una abundante producción de semilla, el modelo arquitectural que poseen y el éxito en el establecimiento de las plántulas hacen que sean adecuadas para la restauración de áreas degradadas (Weberling *et al.*, 2002). A pesar de la utilidad potencial de estas dos especies para restauración, la información acerca de sus características agronómicas (Porta Siota *et al.*, 2018a) y aspectos básicos para su utilización, tales como la existencia de dormición seminal, es limitada (Porta Siota *et al.*, 2018b); mientras que no hay trabajos que comparen

tratamientos pregerminativos para optimizar su germinación. El objetivo de este trabajo fue evaluar la germinación bajo distintos tratamientos pregerminativos de *R. bicentrica* y *R. senna*, leguminosas herbáceas nativas del sudoeste bonaerense con potencialidad para la restauración productiva de pastizales naturales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las semillas de *Rhynchosia bicentrica* y *R. senna* se recolectaron entre diciembre del 2014 y enero del 2016, en el sudoeste de la provincia de Buenos Aires, Argentina (tabla 1). Para los ensayos de germinación se seleccionaron semillas en buen estado y se desinfectaron con NaOCl al 1% durante cinco minutos (Alí *et al.*, 2011), enjuagando posteriormente cinco veces con agua. Luego de aplicar los tratamientos pregerminativos, las semillas se colocaron en cajas de Petri con de 0,5 cm de arena esterilizada y humedecida debajo, y se llevaron a cámara de germinación con condiciones controladas, rociándose con una solución de fungicida de oxiclورو de cobre (polvo mojable Bordeles, GRHESA) únicamente cuando se observó el desarrollo de hongos. El fotoperiodo fue de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad y la temperatura fue constante de 25 °C durante todos los ensayos.

Se realizaron tres ensayos de germinación; en el primero se evaluaron semillas de *Rhynchosia senna* provenientes de BAH 1, BAH 2, TOR y SAA (tres réplicas de 30 semillas) y de *R. bicentrica* provenientes de TOR y SAA colectadas (tres réplicas de 20 semillas), todas colectadas en la temporada de crecimiento 2014/2015. Las semillas de la misma especie que fueron colectadas en sitios diferentes se mezclaron para neutralizar la potencial variabilidad debida al sitio de colecta. En el segundo y tercer ensayo se utilizaron semillas de *R. senna* colectadas en BAH 3 y de *R. bicentrica* colectadas en PUA (cuatro réplicas de 25 semillas), todas colectadas en enero de 2016 (tabla 1). Las semillas se limpiaron manualmente descartando los restos de frutos y follaje, desechando las semillas que estaban dañadas o vacías. Luego se almacenaron hasta su utilización en sobres de papel, en ambiente seco y a temperatura ambiente. El primer ensayo se inició el 12/06/2015, el segundo el 10/03/2016 y el tercero el 30/09/2015, habiéndose iniciado todos los ensayos entre 2 y 8 meses después de la colecta de las semillas, garantizando que no perdieran viabilidad por el tiempo de almacenamiento. El diseño fue completamente aleatorizado en todos los casos.

Los tratamientos pregerminativos del primer ensayo se definieron en función de lo indicado por la bibliografía para las especies emparentadas *R. capitata* (Alí *et al.*, 2011) y *R. minima* (Shaukat y Burhan, 2000; Madueño-Molina *et al.*, 2006), ya que no hay datos reportados sobre germinación de *R. bicentrica* ni *R. senna*. Los tratamientos de los ensayos siguientes se definieron en función de los resultados obtenidos en los ensayos previos. En cada uno se evaluó un control por especie y los tratamientos de escarificación física, química o térmica (tabla 2), que se describen a continuación:

Sitio de colecta	Fecha de colecta	Partido	Latitud	Longitud	Especie
BAH 1	06/12/2014	Bahía Blanca	38°41'50.84"S	62°14'34.17"O	Rs
BAH 2	08/12/2015	Bahía Blanca	38°35'28.49"S	62°05'13.37"O	Rs
TOR	08/04/2015	Tornquist	38°05'02.45"S	61°57'10.69"O	Rb y Rs
SAA	21/04/2015	Saavedra	37°54'23.86"S	62°09'49.76"O	Rb y Rs
BAH 3	12/01/2016	Bahía Blanca	38°24'16.43"S	62°49'03.94"O	Rs
PUA	13/01/2016	Puán	37°36'47.66"S	62°28'00.79"O	Rb

**Tabla 1.** Sitios y fechas de colecta de las semillas de *Rhynchosia bicentrica* (Rb) y *R. senna* (Rs) utilizadas en los ensayos de germinación.

**Escarificación física manual (FMa):** desgaste de las semillas con lija N.º 100 hasta el momento en que se observa claramente el endosperma de la semilla (más claro que la cubierta). El desgaste se realizó en el lado opuesto a la micrópila para no dañar al embrión.

**Escarificación física mecánica (FMe):** desgaste con esscarificadora (tubo hueco forrado con lija N.º 100 por dentro, con un cilindro central giratorio también forrado con lija). Las semillas se introdujeron en el espacio entre las dos lijas y se esscarificaron al girar el cilindro central, dando 5 giros completos al cilindro central.

**Escarificación química con ácido sulfúrico (Qca):** las semillas se sumergieron en ácido sulfúrico sin diluir (pureza 95-98%) durante 1 hora, agitándolas con una varilla de vidrio. Luego se colaron, lavándolas inmediatamente con agua corriente para cortar el efecto del ácido en el tiempo

estipulado. Se las enjuagó reiteradamente hasta conseguir pH neutro.

**Escarificación térmica por inmersión con temperatura inicial controlada (ITi):** se realizó en vasos de precipitado de vidrio, de 500 ml de capacidad y 8 cm de diámetro, con 400 ml de agua caliente por vaso. Se utilizaron cuatro temperaturas iniciales para este tratamiento (40, 50, 60 y 70 °C), manteniendo luego las semillas sumergidas durante 24 horas.

**Escarificación térmica por inmersión a temperatura constante (ITc):** se realizó en termos precalentados, chequeando la temperatura al iniciar y terminar el tratamiento y manteniendo las semillas sumergidas a 50, 60 y 70 °C durante 1 hora.

**Escarificación térmica por exposición a aire caliente (ACa):** las semillas fueron dispuestas en cajas de Petri dentro de estufas precalentadas a 50, 60 y 70 °C durante 1 hora.

	<i>Rhynchosia bicentrica</i>	<i>Rhynchosia senna</i>
<b>Ensayo 1</b>	FMa	FMa
	ITc (80 °C por 10 min)	Qca (60 min)
		ITc (70 °C por 30 min) y (80 °C por 10 min)
<b>Ensayo 2</b>	FMa	FMa
	FMe	FMe
	ITi (40, 50, 60 y 70 °C por 24 horas)	ITi (40, 50, 60 y 70 °C por 24 horas)
<b>Ensayo 3</b>	ITc (50, 60 y 70 °C por 1 hora)	ITc (50, 60 y 70 °C por 1 hora)
	ACa (50, 60 y 70 °C por 1 hora)	ACa (50, 60 y 70 °C por 1 hora)

**Tabla 2.** Tratamientos pregerminativos aplicados a las semillas de *Rhynchosia bicentrica* y *R. senna* en el primer, segundo y tercer ensayo de germinación. FMa: esscarificación física manual; FMe: esscarificación física mecánica; Qca: esscarificación química con ácido sulfúrico; ITi: esscarificación térmica por inmersión con temperatura inicial controlada; ITc: esscarificación térmica por inmersión a temperatura constante y ACa: esscarificación térmica por exposición a aire caliente.

Para todos los ensayos el recuento de semillas germinadas se realizó cada tres días y la finalización del ensayo estuvo determinada por el momento en que la curva de germinación acumulada se volvió asintótica (entre 30 y 45 días según la especie). Se registró el número de semillas germinadas por caja de Petri y se utilizó como criterio de germinación la emergencia de la radícula. De las semillas no germinadas al finalizar el ensayo se registró cuántas aún estaban sin embeber, lo cual se evidencia por una mayor dureza y un tamaño significativamente menor (Franke y Baseggio, 1998), y cuántas embebidas.

El análisis estadístico se realizó utilizando INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2016) y la decisión de aceptación o rechazo se tomó en todos los casos al 5%. El supuesto de normalidad se puso a prueba utilizando la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks modificada y la homoscedasticidad, utilizando la prueba de Levene. Los datos del primer ensayo y la comparación entre controles del segundo y tercer ensayo para Rs se analizaron mediante ANOVA siguiendo un diseño completamente al azar y cuando este resultó significativo, las medias se compararon mediante el test de Tukey. Los datos del segundo y tercer ensayo, que no son homoscedásticos, se analizaron utilizando la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Los valores presentados representan las medias  $\pm$  desvío estándar.

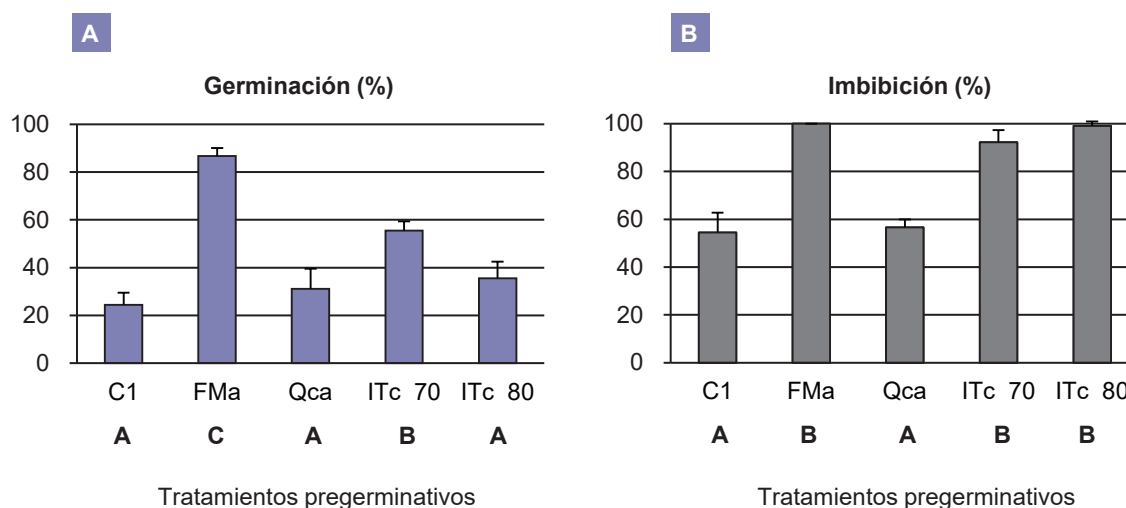
## RESULTADOS

Para *Rhynchosia bicentrica* (Rb) y *R. senna* (Rs) se registró un porcentaje de semillas dormantes, es decir, no embebidas en los controles, mayor al 45%. El porcentaje de semillas dormantes fue mayor en todos los ensayos en Rb (85 a 93%) que en Rs (46 a 70%). El porcentaje de germinación (PG) de las semillas tratadas con escarificación física manual fue siempre mayor que el de las semillas control y tuvo el mayor valor absoluto de PG en ambas especies para los ensayos donde se evaluó (Rb:  $83,33 \pm 11,55\%$

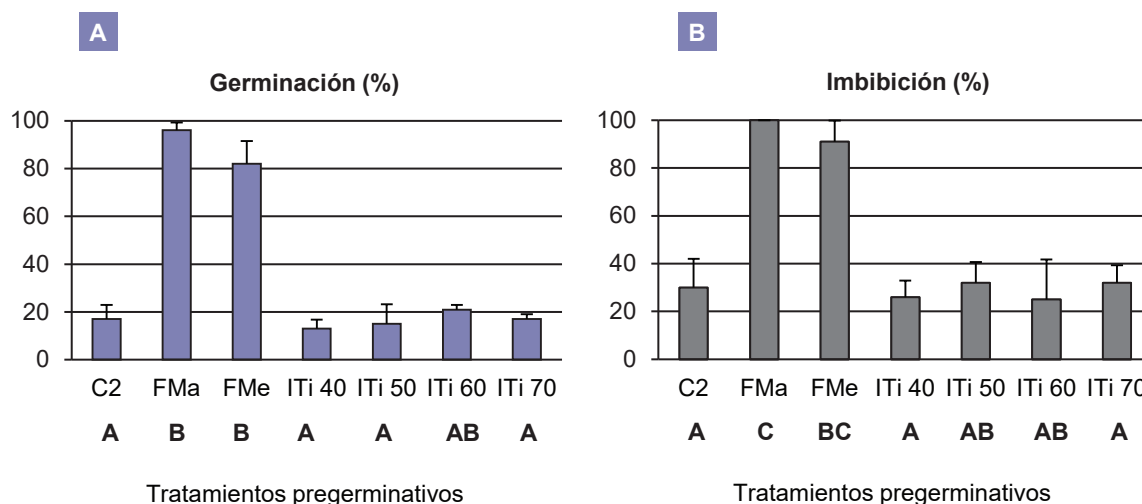
en el primer ensayo,  $95 \pm 7,57\%$  en el segundo, fig. 4A; Rs  $86,67 \pm 3,33\%$  en el primer ensayo,  $96 \pm 3,27\%$  en el segundo, figs. 1A y 2A). La escarificación química, puesta a prueba solo en *R. senna*, no resultó diferente al control con el tiempo y concentración testeados (fig. 1).

### *Rhynchosia senna*

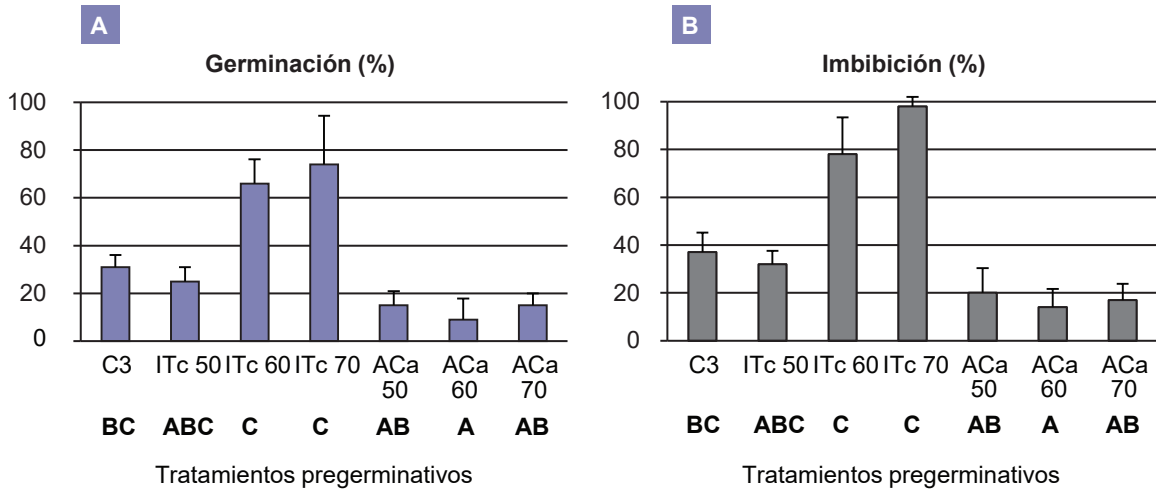
En el primer ensayo se observaron PG mayores al del control en los tratamientos FMa y ITc 70 °C/30 min, obtenidos



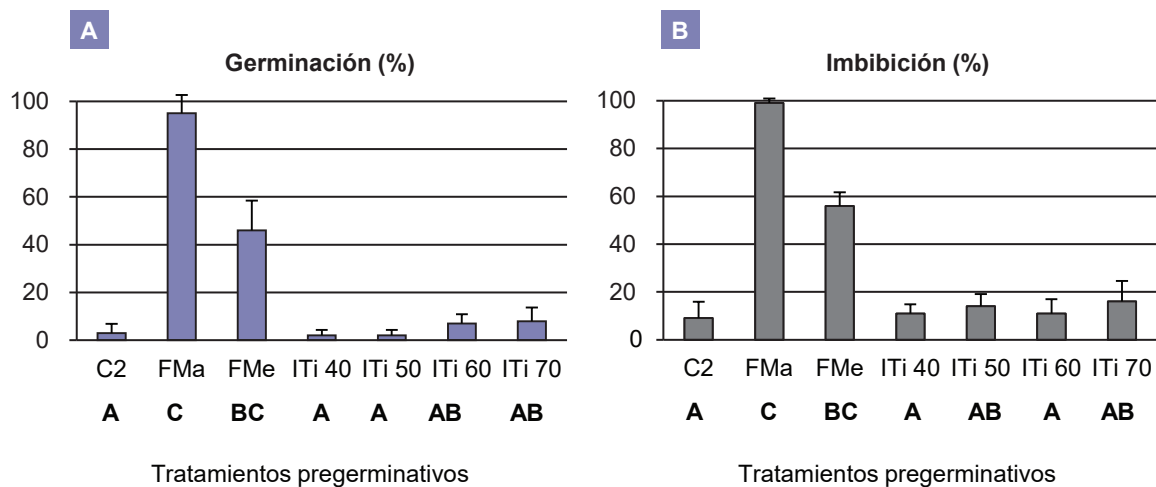
**Figura 1.** *Rhynchosia senna*, ensayo 1. Media y desvío estándar de los porcentajes de germinación (1A) e imbibición (1B) según diferentes tratamientos pregerminativos: control (C1), escarificación física manual (FMa), química (Qca) y térmica por inmersión en agua con temperatura constante (ITc) de 70 °C por 30 min y 80 °C por 10 min. Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).



**Figura 2.** *Rhynchosia senna*, ensayo 2. Media y desvío estándar de los porcentajes de germinación (2A) e imbibición (2B) según diferentes tratamientos pregerminativos: control (C2), escarificación física manual (FMa) o mecánica (FMe) y escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura inicial controlada (ITi) de 40, 50, 60 y 70 °C por 24 horas. Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).



**Figura 3.** *Rhynchosia senna*, ensayo 3. Media y desvío estándar de los porcentajes de germinación (3A) e imbibición (3B) según diferentes tratamientos pregerminativos: control (C3), escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura constante (ITc) o por exposición a aire caliente (ACa) a 50, 60 o 70 °C por una hora. Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).



**Figura 4.** *Rhynchosia bicentrica*, ensayo 2. Media y desvío estándar de los porcentajes de germinación (4A) e imbibición (4B) según diferentes tratamientos pregerminativos: control (C2), escarificación física manual (FMa) o mecánica (FMe) y escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura inicial controlada (ITi) de 40, 50, 60 y 70 °C por 24 horas. Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

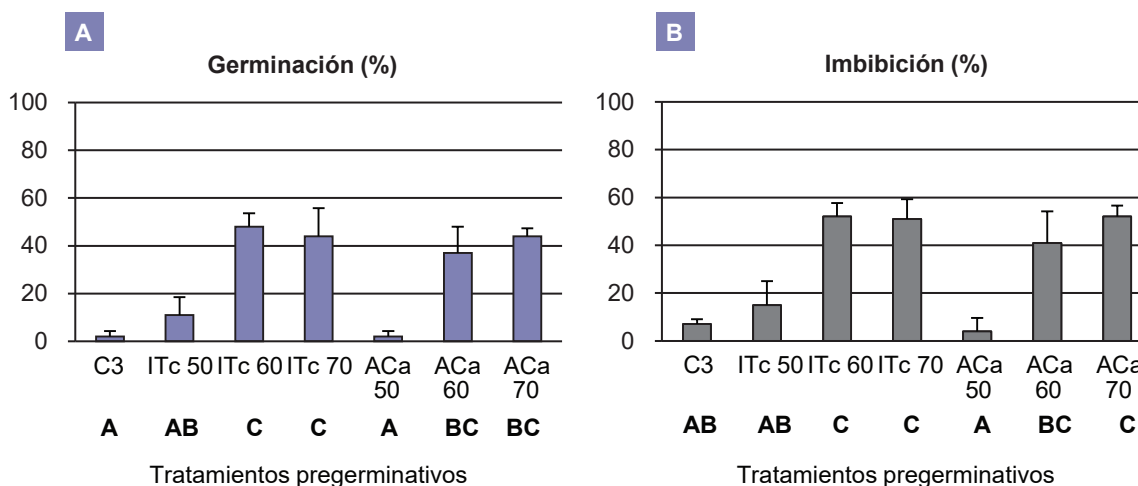
niendo a su vez PG mayores con FMa que con ITc 70 °C/30 min (fig. 1A). El porcentaje de imbibición (PI) fue mayor al del control en FMa, ITc 70 °C/30 min y 80 °C/10 min (fig. 1B).

En el segundo ensayo los tratamientos, por un lado, de escarificación física (FMa y FMe) también tuvieron PG y PI mayores al control, mientras que los demás tratamientos no se diferenciaron del control (fig. 2). En el tercer ensayo, ITc 60 y 70 tuvieron PG y PI mayores a los tratamientos de exposición a aire caliente e iguales al control (fig. 3). Aunque la diferencia solo fue significativa para ACa 60,

se observó una tendencia a que los tratamientos de exposición a aire caliente redujeran el PG y el PI respecto al control (fig. 3). Por otro lado, el tratamiento control de Rs del segundo ensayo tuvo un PG menor ( $p < 0,01$ ) que el del tercer ensayo.

#### ***Rhynchosia bicentrica***

En el primer ensayo se observaron PG mayores a los del control ( $1,67 \pm 2,89\%$ ) en los dos tratamientos evaluados



**Figura 5.** *Rhynchosia bicentrica*, ensayo 3. Media y desvío estándar de los porcentajes de germinación (5A) e imbibición (5B) según diferentes tratamientos pregerminativos: control (C3), escarificación térmica por inmersión en agua con temperatura constante (ITc) o por exposición a aire caliente (ACa) a 50, 60 o 70 °C por una hora. Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

(FMa:  $83,33 \pm 11,55\%$ , ITc 80 °C/10 min:  $45 \pm 13,23\%$ ), que a su vez difirieron entre sí. El porcentaje de imbibición (PI), en cambio, fue equivalente para los dos tratamientos (FMa:  $100 \pm 0,0\%$ , ITc 80 °C/10 min:  $85 \pm 10\%$ ), que difirieron del control ( $15 \pm 5\%$ ) (datos no mostrados).

En el segundo ensayo, tanto el PG como el PI aumentaron para las semillas sometidas a tratamientos de escarificación física (FMa y FMe) y fueron iguales al control para los demás tratamientos (fig. 4). En el tercer ensayo las temperaturas de 60 y 70 °C fueron efectivas para promover la imbibición y la germinación, tanto cuando se aplicaron mediante agua (ITc 60 y 70) como mediante aire caliente (ACa 60 y 70) (fig. 5). En estos dos últimos ensayos, los PI obtenidos fueron solo levemente mayores que los PG del mismo tratamiento (figs. 4 y 5).

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran la necesidad de aplicar tratamientos pregerminativos a las dos especies estudiadas, ya que la mayoría de las semillas mostraron dormición seminal física (en promedio, 60% en *R. senna* y 90% en *R. bicentrica*), tal como se ha reportado para otras especies de leguminosas nativas (Do Canto *et al.*, 2013). Los tratamientos de escarificación física fueron efectivos para lograr la ruptura de la cubierta seminal en ambas especies, resultando en PG de entre  $82 \pm 9,52\%$  y  $96 \pm 3,27\%$  para *R. senna* y de entre  $46 \pm 12,44\%$  y  $95 \pm 7,57\%$  para *R. bicentrica*. La escarificación térmica a temperatura constante por exposición a aire o agua a 60 y 70 °C por una hora también fue efectiva para romper la dormición en *R. bicentrica*. Para *R. senna*, la escarificación térmica a temperatura constante por exposición a agua a 60 y 70 °C por una hora resultó en PG de más del doble que el control ( $31 \pm 5,03\%$  frente a  $66 \pm 10,07\%$  de ITc 60° y  $74 \pm 20,26\%$  de ITc 70°), aunque

esta diferencia no fue significativa, probablemente debido a la prueba no paramétrica utilizada. La ineffectividad del tratamiento de escarificación por exposición a aire caliente en *R. senna* en comparación con *R. bicentrica* podría deberse a diferencias en las estructuras de las semillas que intervienen en la mantención de la dormición física, las cuales son variables para distintas especies de plantas (Baskin *et al.*, 2000).

Los tratamientos de escarificación térmica mostraron, a través del porcentaje de las semillas embebidas que efectivamente germinan y las que no lo hacen, que a pesar de que a mayor temperatura hay mayor ruptura de la dormición física, hay una temperatura máxima que pueden tolerar las semillas para mantenerse viables. El tratamiento ITc 80 °C/10 min aplicado a *R. senna* produjo la ruptura de la cubierta seminal e imbibición del 99% de las semillas, pero solo el 36% de estas semillas embebidas germinaron (fig. 1). El tratamiento de FMa también produjo la ruptura de la cubierta seminal e imbibición del 100% de las semillas, pero en este caso germinaron el 87% de las semillas embebidas (fig. 1). Asimismo, en el primer ensayo para *R. bicentrica*, el 83% de las semillas embebidas sometidas a FMa germinaron, mientras que solo el 53% de las sometidas a ITc 80 °C/10 min lo hicieron. Estos elevados valores de semillas que se embebieron pero no germinaron en el tratamiento de ITc 80 °C/10 min indicarían que la temperatura constante de 80 °C resulta excesivamente alta y perjudicial para el embrión (Franke y Baseggio, 1998).

Por un lado, con la excepción de los tratamientos de escarificación térmica con temperaturas elevadas (80 °C) los porcentajes de imbibición obtenidos fueron solo levemente mayores que los porcentajes de germinación. Esto, junto con los porcentajes de germinación cercanos a 90% obtenidos para ambas especies con el tratamiento de escarificación física manual, indica que la viabilidad de las semillas utilizadas fue alta y que no presentan otro tipo

de dormición. Por otro lado, resulta interesante destacar la diferencia en el PG obtenido para los controles del segundo y tercer ensayo de *R. senna*, aun cuando el lote de semillas utilizado fue el mismo y la diferencia de tiempo entre la fecha de inicio de los ensayos fue de 6 meses. El aumento de un PG de  $17\pm 6\%$  en el segundo ensayo a uno de  $31\pm 5,03\%$  en el tercero podría reflejar un proceso de maduración del embrión desde el momento de la cosecha. Esto ha sido reportado para *Piptochaetium napostaense* y *Nassella tenuis*, dos especies de la misma región de estudio cuyo porcentaje de semillas dormantes disminuye con el paso del tiempo al ser almacenadas a temperatura ambiente en laboratorio o en condiciones de campo (Distel *et al.*, 1992). Según los autores, este comportamiento germinativo de *P. napostaense* y *N. tenuis* puede constituir una adaptación ecológica para evitar la germinación inmediata luego de la fructificación, evitando la pérdida de plántulas por exposición a las altas temperaturas y sequías típicas del verano en la zona de estudio.

Para *R. senna* también se han reportaron PG elevados para semillas escarificadas (mayores a 80%) y significativamente menores para el control (menores a 22%), sin diferencias entre las condiciones de temperatura y luz evaluadas (Porta Siota *et al.*, 2018b). Aunque en la bibliografía no abundan los datos sobre germinación de *Rhynchosia bicentrica* ni *R. senna*, sí los hay sobre las especies emparentadas *R. capitata* y *R. minima*, ambas con características biológicas, morfológicas y ecológicas en común con *R. bicentrica* y *R. senna*. Alí *et al.* (2011) obtuvieron los mejores PG para *R. capitata* mediante la escarificación física y escarificación química ( $H_2SO_4/60$  a 80min, seguida por  $HCl/15h$ ), lo cual coincide solo parcialmente con lo encontrado en este estudio. Madueño-Molina *et al.* (2006) observaron una respuesta positiva a la escarificación química ( $H_2SO_4/30$  a 60 min), obteniendo resultados similares al aplicar aire caliente ( $70\text{ }^\circ C/5\text{ h}$ ) en *R. minima*, de lo cual se deduce que tal vez el problema de los tratamientos de escarificación térmica por exposición a aire caliente aplicados en este estudio sea un tiempo insuficiente de exposición, ya que solo se mantuvieron en estufa por una hora. Shaukat y Burhan (2000) encontraron para *R. minima* que la escarificación física fue más efectiva que la escarificación química con  $HCl$ . La inmersión en agua caliente ( $100\text{ }^\circ C$ ) y el calor seco ( $50\text{ }^\circ C$  y  $70\text{ }^\circ C$ ) dieron resultados similares a las del ácido clorhídrico. Según estos autores, en condiciones de campo, el calor seco del verano aparentemente rompería la dormición seminal.

El tratamiento de escarificación física manual, que resultó efectivo para ambas especies, solo es aplicable a escala experimental, ya que implica el lijado manual de cada semilla. Con el tratamiento de escarificación mecánica se obtuvieron porcentajes de germinación levemente menores aunque estadísticamente equivalentes, y este método presenta la ventaja de permitir el procesamiento de un número de semillas mayor. Por lo tanto, para ambas especies se sugiere la utilización del tratamiento de escarificación física con escarificadoras de semillas, adaptando las existentes en el mercado. La utilización de escarificadoras mecánicas para romper la dormición seminal resulta ventajosa frente

a los procesos de selección de semillas de cubierta blanda. Esto se debe a que no solo es un proceso más rápido, sino que también permite a la especie cultivada mantener una característica que le representa una ventaja para la germinación en momentos propicios y el mantenimiento de un banco de semillas activo natural (Medeiros y Nabinger, 1996 *vide* Dias *et al.*, 2004). Esta característica es de un interés tal que en algunas especies se ha intentado incrementar el porcentaje de semillas dormantes intencionalmente por selección, (Taylor, 2005), especialmente en ambientes con alta variabilidad climática como es el sudoeste bonaerense (Campo de Ferreras *et al.*, 2004).

La escarificación química no fue efectiva para los tiempos evaluados en este estudio y puede presentar riesgos operacionales para los trabajadores y el ambiente (Franke y Baseggio, 1998), por lo que se desaconseja al existir otras alternativas. Los tratamientos de escarificación térmica por inmersión en agua caliente presentan la desventaja de que el tratamiento produce la imbibición de la semilla y por lo tanto inician el proceso de germinación rápidamente. Esto hace que deban ser sembradas inmediatamente, requiriendo condiciones de humedad adecuadas para lograr el establecimiento de la plántula, lo que podría resultar desventajoso a la hora de sembrar grandes superficies en un tiempo acotado. Particularmente para la especie *R. bicentrica* resultarían efectivos los tratamientos de ITc y AC con temperaturas de  $60\text{ }^\circ C$  o  $70\text{ }^\circ C$  por una hora o aun más; deberían testearse tiempos mayores de exposición para optimizar el efecto del tratamiento.

Mediante la información generada concluimos que ambas especies requieren de tratamientos pregerminativos, y la escarificación física mecánica se presenta como un tratamiento pregerminativo posible por su efectividad y posibilidad de ser aplicada a mayor escala. El tratamiento de escarificación térmica por exposición a aire caliente, por su parte, podría ser una alternativa para *R. bicentrica*. Los resultados obtenidos motivan a continuar el estudio de las condiciones apropiadas para la germinación de estas especies de plantas nativas que podrían utilizarse como especies claves en programas de restauración de pastizales naturales de Argentina, incluyendo ensayos que comparen tratamientos de escarificación física mecánica y térmica con mayor detalle. Asimismo, resulta fundamental el estudio de las condiciones ambientales propicias para la germinación, las técnicas para la implantación a campo de estas especies, la producción y cosecha de semilla en calidad y cantidad suficientes y otras características de interés agronómico y ecológico que mejoren nuestro conocimiento sobre sus potencialidades y limitaciones.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Nacional del Sur, la Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires y el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria por el apoyo material y financiero que hizo posible este trabajo. Los autores declaran no tener conflicto de intereses con respecto al contenido de la presente investigación.



## BIBLIOGRAFÍA

- ALÍ, H.H.; TANVEER, A.; NADEEM, M.A.; ASGHAR, H.N. 2011. Methods to break seed dormancy of *Rhynchosia capitata*, a summer annual weed. Chilean Journal of Agricultural Research 71(3), 483-487.
- BASCONSUELO, S.; GROSSO, M.; KRAUS, T.; BIANCO, C.; BIANCO, L.; VILETA, D.; MALPASSI, R. 2013. Leguminosas nativas con potencial forrajero: *Adesmia bicolor*. 1.º ed. UniRío Editora. 23 p.
- BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. 1998. Seeds. Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. Academic Press. San Diego, California, Estados Unidos. 666 p.
- BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. 2014. Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination (2nd ed). Academic Press, San Diego, California, Estados Unidos.
- BASKIN, J.M.; BASKIN, C.C. 2000. Classification, Biogeography and Phylogenetic Relationships of Seed Dormancy. En: SMITH, R.D.; DICKIE, J.B.; LININGTON, S.L.; PRITCHARD, H.W.; PROBERT, R.J. (Eds). Seed conservation: Turning science into practice. London, Royal Botanic Gardens. 518-544 pp.
- BASKIN, J.M.; BASKIN, C.C.; LI, X. 2000. Taxonomy, anatomy and evolution of physical dormancy in seeds. Plant Spec. Biol. 15: 139-152.
- BEIDER, A. 2012. Viverización de especies nativas de zonas áridas. Estación Experimental Agropecuaria Chubut del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. INTA. Inca Editorial. Mendoza, Argentina. 67 p.
- CAMPO DE FERRERAS, A.M.; CAPELLI DE STEFFENS, A.M.; DIEZ, P.G. 2004. El clima del suroeste bonaerense. Departamento de Geografía y Turismo, Universidad Nacional del Sur. 99 p.
- CABRERA, A.L.; AÑÓN SUÁREZ, D. 1967. Flora de la Provincia de Buenos Aires. Parte iii: Piperáceas a Leguminosas. Colección Científica INTA. 671 p.
- CECCON, E. 2013. Restauración en bosques tropicales: fundamentos ecológicos, prácticos y sociales. Ediciones Díaz de Santos, 1.º edición. México D. F., México. 290 p.
- CHIRINO, C.C.; NORLANDER GRAHN K.M.; ROBLES L.E. 1988. Determinación de proteína bruta de algunas especies forrajeras de La Pampa. Revista de la Facultad de Agronomía, UNLPam 3(2), 57-74.
- DIAS, P.M.B.; SCHIFINO-WITTMANN, M.T.; DALL'AGNOL, M. 2004. Adesmia DC: Estado atual do conhecimento e perspectivas de uso de uma forrageira nativa de alta qualidade. Revista Científica Rural 9(2): 60-71.
- DE FARIA, S.M.; LEWIS, G.P.; SPRENT, J.I.; SUTHERLAND, J.M. 1989. Occurrence of nodulation in the Leguminosae. New Phytol 111, 607-619.
- DISTEL, R.A.; PELÁEZ, D.V.; FERNÁNDEZ, O.A. 1992. Germination of *Piptochaetium napostaense* (Speg.) Hackel and *Stipa tenuis* Phil. and seedling survival under field conditions. Rangel. J. 14(1): 49-55.
- DISTEL, R.A. 2016. Grazing ecology and the conservation of the Caldenal rangelands, Argentina. J. Arid. Environ. 134, 49-55.
- DO CANTO, J.; REYNO, R.; REAL, D.; REVELL, C. 2013. Seed softening patterns of forage legumes in a temperate/subtropical environment in Uruguay. Chilean Journal of Agricultural Research 73(1): 41- 47.
- FAGÚNDEZ, G.A.; REINOSO, P.D.; ACEÑOLAZA, P.G. 2016. Caracterización y fenología de especies de interés apícola en el departamento Diamante (Entre Ríos, Argentina). B. Soc. Argent. Bot. 51 (2), 243-267.
- FENNER, M.; THOMPSON, K. 2005. Seed dormancy. The ecology of seeds. Cambridge University Press. Nueva York, Estados Unidos. 97-109 pp.
- FRANKE, L.B.; BASEGGIO, J. 1998. Superação da Dormência de Sementes de *Desmodium incanum* D.C. e *Lathyrus nervosus* Lam. Revista Brasileira de Sementes 20(2),182-186.
- GALLEGO, L.; DISTEL, R.A.; CAMINA, R.; RODRÍGUEZ IGLESIAS, R.M. 2004. Soil phytoliths as evidence for species replacement in grazed rangelands of central Argentina. Ecography 27: 725-732.
- GOLENIOWSKI, M.E.; BONGIOVANNI, G.A.; PALACIO, L.; NÚÑEZ, C.O.; CANTERO, J.J. 2006. Medicinal plants from the "Sierra de Comechingones", Argentina. J. Ethnopharmacol. 107, 324-34.
- GROOM, A. 2012. *Rhynchosia senna*. The IUCN Red List of Threatened Species 2012: e.T19891570A20137453. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2012.RLTS.T19891570A20137453>
- HOLMBERG, E.L. 1884. Informe presentado al Gobernador de la provincia de Buenos Aires. Excursión a la Sierra del Curá-Malal. En: CHÉBEZ, J.C.; GASPARRI, B. (eds.). 2008. Excursiones Bonaerenses por Eduardo Ladislao Homberg. Editorial Albatros. Buenos Aires, Argentina. 239 p.
- IZAGUIRRE, P. 2005. Uruguay y sus Recursos Fitogenéticos en Leguminosas. Agrociencia 9(1-2), 77-83.
- KRÜGER, H.; MARTENS, F.; VILLAGRA, C.; GONZÁLEZ FERRÍN, S.; BRUNO, S.; PELTA, H.; IURMAN, D. 2013. Sustentabilidad. Interpretación conceptual y problemas observados en el Centro y Sur de la provincia de Buenos Aires. En: KRÜGER, H. (Eds). Boletín Técnico N.º 19 del INTA. 1.º edición. Ediciones INTA: Bordenave, Buenos Aires, Argentina. 31 p.
- MADUEÑO-MOLINA, A.; GARCÍA-PAREDES, D.; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, J.; RUBIO-TORRES, C.; NAVARRETE-VALENCIA, A.; BOJÓRQUEZ-SERRANO, J. 2006. Germinación de semilla de frijolillo, *Rhynchosia minima* (L.) DC., luego de someterla a tratamientos pregerminativos. Bioagro 18(2), 101-105.
- MARTÍNEZ-CROVETTO, R. 1968. Estudios Etnobotánicos III. Nombres de plantas y su utilidad, según los indios Araucano-Pampas del Oeste de Buenos Aires. Etnobiológica 12, 1-24.
- MARTÍNEZ-CROVETTO, R.N. 2014. Algunos datos sobre etnobotánica Mocoví. Bonplandia 23(2), 119-131.
- MAS, M.T.; VERDÚ A.M.C.; KRUK, B.C.; DE ABELLEYRA, D.; GUGLIELMINI, A.C.; SATORRE, E.H. 2010. Weed communities of transgenic glyphosate-tolerant soybean crops in ex-pasture land in the southern Mesopotamic Pampas of Argentina. Weed Res. 50, 320-330.
- MEDEIROS, R.B.; NABINGER, C. 1996. Superação da dormência em sementes de leguminosas forrageiras. Revista Brasileira de Sementes 18(2): 193-199.
- ORFILA, E.N.; FARINA, E.L. 2002. Leguminosas autóctonas y naturalizadas de las Sierras de Azul, provincia de Buenos Aires. Facultad de Agronomía, UNCPBA. 75 p.
- PELÁEZ, D.V. 2012. Dinámica de la vegetación en los pastizales del SO Bonaerense: Interacción clima- fuego-pastoreo. Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria. Tomo Lxv. 406-416 pp.
- PORTA SIOTA, F.; LEDESMA, G.; PETRUZZI, H.J.; MORICI, E.F.A. 2018a. Acumulación de biomasa aérea en poblaciones de *Rhynchosia senna* Gillies ex Hook. en dos temporadas de crecimiento. VIII Congreso Nacional y IV Congreso del Mercosur sobre Manejo de Pastizales Naturales. Chamical, La Rioja, Argentina.
- PORTA SIOTA, F.; PETRUZZI, H.J.; MORICI, E.F.A. 2018b. Factores que condicionan la germinación en semillas de *Rhynchosia senna* Gillies ex Hook. VIII Congreso Nacional y IV Congreso

del Mercosur sobre Manejo de Pastizales Naturales. Chamental, La Rioja, Argentina.

SCARPA, G.F.; ROSSO, C.N.; ANCONATANI, L. 2016. Etnobotánica médica de grupos criollos de Argentina: reconocimiento, análisis y puesta en valor de los datos presentados por el gobierno argentino en la Exposición Universal de París de 1889. *Darwiniana*, nueva serie 4(2), 291-315.

SHAUKAT, S.S.; BURHAN, N. 2000. Fecundity, seed characteristics and factors regulating germination of *Rhynchosia minima* (L.) DC. *Pak.J.Bot.* 32(1), 211-226.

SPRENT, J.I.; GEHLOT, H.S. 2010. Nodulated legumes in arid and semi-arid environments: are they important? *Plant Ecology & Diversity* 3(3), 211-219.

TAYLOR, G.B. 2005. Hardseededness in Mediterranean annual pasture legumes in Australia: a review. *Australian Journal of Agricultural Research* 56(7): 645-661.

TORIBIO, M.S.; ORIANI, S.D.; TOSO, R.E.; TORTONE, C.A.; FERNÁNDEZ, J.G. 2007. Suceptibilidad de *Staphylococcus aureus* a extractos vegetales obtenidos de plantas nativas y naturalizadas de la provincia de La Pampa, Argentina. *B. Latinoam. Caribe Pl.* 6(6), 367-368.

TURNER, B.L. 2012. Taxonomic Status of *Rhynchosia diversifolia* var. *prostrata* (Fabaceae). *Lundellia* 15: 22-25.

VARELA, S.A.; APARICIO, A. 2011. Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. Publicación de la Estación Experimental Agropecuaria Bariloche del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Cuadernillo N.º 3 de la Serie Técnica "Sistemas forestales integrados". Ediciones INTA. 10 p.

WEBERLING, F.; KRAUS, T.A.; BIANCO, C.A.; MALPASSI, R. 2002. Variación y estrategias adaptativas de los sistemas de ramificación de Fabáceas herbáceas. *Feddes Repertorium* 113(5-6), 342-353.