

## PRUEBAS DE ENVEJECIMIENTO ACELERADO PARA DETERMINAR VIGOR DE SEMILLAS DE *Prosopis alba* DE TRES PROCEDENCIAS GEOGRÁFICAS

FONTANA, M. L.<sup>1,2</sup>; PEREZ, V. R.<sup>3</sup> & LUNA, C. V.<sup>2</sup>

### RESUMEN

Con el objeto de crear bases conceptuales para determinar la calidad de semillas de *Prosopis alba* a través de pruebas de envejecimiento acelerado se determinó el vigor realizando ensayos con calor húmedo (EACH), calor seco (EACS) y solución salina (EASS) en semillas de tres procedencias geográficas: Santiago del Estero, Formosa y Norte de la provincia de Salta. Se demostró significancia para la interacción Procedencia\*Tratamiento y se determinó que el EACH al afectar significativamente al índice de envejecimiento es el único procedimiento aplicable a todas las procedencias. Clasificando a cada procedencia según su vigor medido a través del IE luego de la prueba de EACH: el rodal Chaqueño resulta superior a los rodales Santiagueño y Salta Norte, que son similares entre sí. La evaluación de vigor permitió distinguir las procedencias mediante cualidades no detectadas en pruebas de germinación normal en condiciones estándar.

*Palabras claves:* análisis de semillas, control de calidad, germinación, Mesquite.

### ABSTRACT

#### **Accelerated aging tests for *Prosopis alba* to determine seed vigor of three geographical source.**

In order to create conceptual basis for determining the quality of *Prosopis alba*'s seeds through accelerated ageing tests, vigor was determined conducting trials with moist heat (MHAA), dry heat (DHAA) and saline solution (AASS) on seeds from three geographical origins: Santiago del Estero, Formosa and north of Salta province. Significance was determined for Provenance\*Treatment interaction and was determined that the MHAA is the only procedure applicable to all provenances because significantly affect the aging index (AI). According to IE measured after MHAA test, Chaco provenance showed the best performance followed by Santiago del Estero and Salta

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

2.- Estación Experimental Agropecuaria Sáenz Peña. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

3.- Cátedra de Silvicultura, Facultad de Recursos Naturales. Universidad Nacional de Formosa.

Email: cluna@agr.unne.edu.ar

Manuscrito recibido el 11 de diciembre de 2015 y aceptado para su publicación el 24 de junio de 2016.

Norte stands, which are equal to each other. Vigor evaluation allowed the provenances to be distinguished through qualities not detected in normal germination test under standard conditions.

*Key words: seed analysis, quality control, germination, Mesquite.*

## INTRODUCCIÓN

La calidad de semilla comprende aspectos genéticos, fitosanitarios, físicos y fisiológicos y, además, puede definirse como los atributos inherentes que determinan su potencial de germinación y sus características de crecimiento posterior (19). En este sentido, el origen de procedencia de la población de la cual se recolectan las semillas es importante ya que aunque sean de la misma especie, las semillas que se desarrollan en un gradiente latitudinal pueden mostrar características notablemente diferentes (5). Las pruebas de germinación constituyen el procedimiento más ampliamente usado para determinar calidad de semillas y, aunque sobreestiman el comportamiento de las mismas, pueden complementarse con la determinación del vigor, que brinda una respuesta que correlaciona mejor con los resultados de germinación a campo (3).

La Asociación Oficial de Análisis de Semilla (1) define a las pruebas de vigor como la herramienta cada vez más usada para la determinación del potencial fisiológico de las semillas. Los objetivos básicos de estas pruebas son: evaluar diferencias significativas en la calidad de lotes de semillas con porcentaje de germinación similar, complementar la información de las pruebas

de germinación; separar lotes en diferentes niveles de vigor, relacionándolos a la emergencia de plántulas en campo, resistencia al transporte y potencial de almacenamiento. La evaluación del vigor puede realizarse mediante pruebas de estrés, las que implican la germinación de las semillas durante o después de ser sometidas a condiciones estresantes. Las mencionadas pruebas de estrés incluyen diferentes métodos tales como la prueba de frío, la prueba de germinación con frío, la prueba de estrés osmótico y la prueba de envejecimiento acelerado (EA) (20). Las pruebas de EA, basadas en el aumento del deterioro de las simientes cuando se exponen a condiciones de alta temperatura y humedad relativa por períodos de tiempo que varían según la especie, son de las más utilizadas a nivel internacional y es necesario estandarizarlas para cada especie. Una de sus deficiencias radica en que, en función de la especie y para una misma temperatura, el aumento del período de exposición proporciona ganancias en los porcentajes del contenido de agua de las simientes. Para contrarrestar este factor, se sugiere el uso de soluciones saturadas de sales (NaCl, KCl o NaBr) durante la realización de la prueba, con el objetivo de reducir la humedad relativa en el interior de los compartimientos individuales, con

lo que se retarda la absorción de agua por la semilla. Esta modificación se denomina “test de envejecimiento acelerado con uso de soluciones saturadas de sal” (SSAA por sus siglas en inglés) y fue propuesto por Jianhua y McDonald (12).

Si bien existe una carencia de información acerca de la estandarización del método para diferentes especies; teniendo en cuenta temperatura y períodos adecuados de exposición de las pruebas de EA, en la literatura predominan investigaciones acerca del uso de períodos de exposición que pueden causar estrés mucho más drásticos que los enfrentados por las semillas durante el transporte y el almacenamiento, y aun en las condiciones de siembra en campo (16). Al mismo tiempo, las investigaciones relacionadas con la confección de metodologías apropiadas para la medición del vigor enfatizan en las especies hortícolas, siendo escaso el trabajo en esta dirección en especies leñosas y más aún en leguminosas de hábito de crecimiento arbustivo y arbóreo. Marcos Filho *et al.* (18) aseguran que la única prueba de estrés que se realiza entre las semillas de árboles es la de EA limitándose su uso a especies que poseen simientes grandes; al tiempo que fue menos estudiado en especies de semillas pequeñas. Por ello, el objetivo del presente es realizar estudios que permitan crear las bases conceptuales para medir el vigor de las semillas de *Prosopis alba* Griseb., a través del uso de la prueba de envejecimiento acelerado para determinar la calidad de semillas de tres procedencias geográficas: Santiago del Estero a orillas del río Dulce, Formosa a orillas del río Bermejo y Norte de la provincia de Salta.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Material vegetal*

Se trabajó con semillas de *Prosopis alba* provenientes de 3 rodales semilleros los cuales se corresponden a tres grupos morfológicos distintos: 1) Rodal Santiagueño : 27° 52' 44" S - 64° 9' 16" W, a 15 km al sudeste de la ciudad de Santiago del Estero a orillas del río Dulce; 2) Rodal Chaqueño: 24° 15' 58" S - 61° 54' 0" W, en el extremo oeste de la provincia de Formosa a orillas del río Bermejo y, 3) Rodal Salta Norte: 22° 12' 1" S - 63° 40' 33" W, en el extremo Norte de la provincia de Salta, Argentina.

### *Pruebas de envejecimiento acelerado*

1) *Con calor húmedo (EACH)* (6): se sometieron las semillas a una temperatura de 45 °C ± 1 °C y a una humedad relativa del 100 % por un lapso de 48 hs. Para ello se utilizaron frascos de vidrio conteniendo 100 mL de agua destilada y una malla de tul por encima del nivel del agua como medio de soporte de las semillas. 2) *Con solución saturada (EASS)*: Se empleó el mismo procedimiento anteriormente descrito, excepto que en cada frasco se agregaron 40 g de NaCl; el tiempo de permanencia en las condiciones mencionadas fue de 48 hs. 3) *Con calor seco (EACS)*: las semillas se sometieron a calor seco en estufa a 60 °C y 0 % de humedad relativa por 48 hs. Los efectos de los diferentes tratamientos de EA se contrastaron con un testigo no envejecido sometido a escarificado mecánico consistente en lijado manual con lija N° 180 seguido de imbibición en agua a temperatura ambiente por 24 hs., tratamiento pre-germinativo superior determinado en ensayos anteriores (8). Se realizaron 4 repeticiones de 25 semillas cada una.

Luego del EA y el tratamiento pre-germinativo del testigo se retiraron las semillas y se efectuó una prueba de germinación normal con el método sobre papel e incubación a  $25 \pm 2$  °C, considerando semilla germinada a aquella con la radícula emergida y de 2 mm. A los 7 días se contaron los porcentajes de plántulas normales, anormales y la presencia de semillas duras, frescas y muertas mediante la observación directa; también se determinó el porcentaje de germinación (PG), la energía germinativa (EG), el índice de envejecimiento (IE), el tiempo medio de germinación máxima (TMG) y el valor de germinación (VG) calculados para un plazo de 200 días.

Las fórmulas empleadas fueron las siguientes:

IE según (25):

IE = (PG inicial - PG post EA) / PG inicial.

PG (%) = (semillas germinadas / semillas puestas a germinar) \* 100.

La EG calculada fue la correspondiente al tiempo transcurrido desde la siembra hasta la germinación del 40 % de las semillas.

TMG según Silva y Nakagawa (23):

$$TMG = \sum (TiN1) / N,$$

Dónde: Ti es el número de días transcurridos desde el inicio del ensayo, Ni es el número de semillas germinadas en el día y N el número total de semillas germinadas.

VG se calculó mediante el método de Czabator (4):

$$VG = VM * GDM,$$

Dónde: VM corresponde al valor máximo entre los valores producto de la división del porcentaje acumulado de germinación y la cantidad de días que se tardó en obtenerse; y GDM es la germinación

media diaria, calculada como la razón entre el porcentaje final de germinación (PG) y el número de días transcurridos hasta llegar a ese valor.

#### **Análisis estadístico:**

Los datos fueron tratados estadísticamente con el software Infostat (11). Se realizó un análisis de la variancia (ANAVA) comparando las medias de los tratamientos a través de la prueba de Duncan ( $P \leq 0,05$ ). Para el análisis se empleó el modelo:  $Y_{ijk} = M + \alpha_i + \beta_j + \delta_{ij} + \varepsilon_{ijk}$  donde:  $Y_{ijk}$  representa la respuesta de la k-ésima repetición en el i-ésimo nivel del factor a y j-ésimo nivel de factor b,  $\mu$  representa una media general,  $\alpha_i$  el efecto que produce el i-ésimo nivel del factor a,  $\beta_j$  corresponde al efecto del j-ésimo nivel del factor b,  $\delta_{ij}$  el efecto adicional (interacción) para la combinación de los niveles i del factor a y j del factor b y  $\varepsilon_{ijk}$  es el error aleatorio asociado a la observación ijk-ésima.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **Atributos morfológicos al séptimo día:**

El ANAVA realizado a los resultados obtenidos al evaluar los atributos morfológicos mostró en el caso de las variables plantas normales, semillas duras y semillas muertas diferencias significativas para tratamiento, procedencia e interacción. Para la variable plantas anormales solo se halló significancia para el efecto de los tratamientos y, para semillas frescas, hubo significancia para la interacción Procedencia\*Tratamiento (p-valor de 0,0467).

El análisis de los resultados referidos al porcentaje de plantas normales que se expone en la Tabla 1 mostró que el tratamiento EACH afectó de manera diferente a las procedencias: Salta Norte se mostró como la más sensible con tan solo 26,67% de plantas normales, luego la procedencia Santiago del Estero con 40% y, en último orden, la procedencia Chaqueña resultando la menos susceptible. En el caso del calor seco, las semillas oriundas de Santiago del Estero resultaron las más sensibles (35,55%) mientras que las salteñas fueron las menos afectadas con 97,78% de plantas normales. El EASS permitió diferenciar a la procedencia Santiago del Estero (60%) de la procedencia Salta Norte (88,89%) y se evidenció que fue el tratamiento que posibilitó los mayores porcentajes de plantas normales para las tres procedencias.

En cuanto al porcentaje de plantas anormales, donde solo se detectó significancia para el factor tratamiento, puede afirmarse que existen diferencias significativas entre el EACS (1,48% de plantas anormales en promedio) y el EACH (9,63%) (Tabla 1).

El EACH determinó un porcentaje de semillas duras estadísticamente superior (24,44%) en la procedencia Santiago del Estero; las procedencias Salta Norte y Chaco no muestran diferencias entre sí para este tratamiento. El tratamiento EACS determinó que la procedencia Santiago del Estero reportara el mayor valor con 62,22% de semillas duras; la procedencia Chaco reduce esta proporción a la mitad (31,11%) mientras que Salta Norte tiene el menor registro (2,22%). Del mismo modo que el EACS, el EASS muestra diferencias entre las procedencias estudiadas: el valor fue mínimo para la procedencia Salta Norte (2,22%), intermedio para la procedencia

Chaco (13,33%) y máximo en el caso de las semillas santiagueñas (37,78%) (Tabla 1). Los datos precedentes muestran que el calor seco incrementa la presencia de semillas duras; en este sentido el efecto del EACS sobre éste valor no ha sido documentado, pero una hipótesis explicaría los resultados obtenidos. El porcentaje de semillas duras en la procedencia Salta Norte no fue afectada por los tratamientos como la de los rodales Santiagueño y Chaqueño; esto puede responder a que, si bien las temperaturas medias de los tres ambientes son similares, el primer rodal se localiza en un área que presenta una pluviometría media de 1054 mm/año, mientras que los rodales Santiagueño y Chaqueño reciben 579 y 678 mm/año respectivamente. Considerando que las semillas de Salta Norte se desarrollan en un ambiente relativamente más húmedo, podría argumentarse que las procedencias Santiago del Estero y Chaco luego de 48 hs de calor seco reducirían su contenido de humedad a un nivel extremo determinando la necesidad de más tiempo para desencadenar el proceso germinativo por el efecto de la deshidratación sobre la velocidad de germinación (24).

En la Tabla 1 se observa que para el porcentaje de semillas que experimentan imbibición pero la germinación no se desencadena (semillas frescas) es cero para todas las procedencias bajo el tratamiento testigo. La comparación de las medias considerando ambas fuentes de variación simultáneamente muestra que la procedencia Salta Norte bajo EACH (4,47%) es la única que se diferencia significativamente de esta misma procedencia sometida a EACS y EASS, del rodal Santiagueño tratamientos EACH y EASS y de la procedencia Chaco tratada con calor húmedo y seco.

El EACH es el tratamiento que ocasiona la muerte del mayor porcentaje de semillas: se ubica Salta Norte en primer orden (51,11%), seguido por las procedencias Santiago del Estero y Chaco que no se diferencian entre sí. Estadísticamente diferente y con valores de 0 y 4,45% se encuentran todas las procedencias con los tratamientos testigo, EASS y EACS (Tabla 1).

Como fuera determinado, la existencia de diferencias significativas para tratamiento, procedencia e interacción revela que las procedencias responden de manera diferente en los cuatro tratamientos y que la respuesta de las variables plantas normales, semillas duras y semillas muertas no son independientes para los factores procedencia y tratamiento. A este respecto, Shu-yan (22) al evaluar el vigor de semillas de 5 procedencias de *Pinus flexilis* James encuentran diferencias entre ellas y concluyen diciendo que el vigor es afectado por el tratamiento aplicado así como también por características heredables resultantes de la interacción de las especies con el ambiente. No obstante ello, en el presente ensayo se ha determinado que para la variable plantas anormales la única fuente de variación significativa fue el efecto de los tratamientos diferenciándose el EACH -que genera una mayor cantidad de plantas anormales- del EACS. Los efectos del EA sobre la morfología de plántulas de especies leñosas ha sido poco documentada pero si existen registros sobre los efectos en especies herbáceas: Sánchez-Enríquez *et al.* (21) mencionan que en maíz azul el deterioro causado por el calor húmedo incrementa significativamente el número de plántulas anormales; iguales resultados obtienen Ayala-Garay *et*

*al.* (2) con *Phaseolus coccineus* L. y Li *et al.* (15) indican que el EACH tiene un efecto marcado sobre el porcentaje de plantas normales de *Impatiens wallerana* Hook.F. pero en este caso la componente genética es importante ya que distintas variedades muestran diferente sensibilidad. Estos autores sostienen que la reducción de la capacidad para producir plántulas normales podría deberse a que los patrones respiratorios se deterioran pero siguen viables (la cantidad de ATP producido por volumen de oxígeno consumido es aproximadamente la mitad con respecto a semillas vigorosas) además de ocurrir deficiencias en la síntesis proteica -por cambios en estructuras macromoleculares- y verse afectadas las enzimas necesarias para convertir las reservas del embrión en sustancias utilizables y devenir en la formación de una planta normal (14).

Para la especie estudiada en el presente trabajo y, considerando el porcentaje de semillas muertas, es posible afirmar -en coincidencia con lo expresado por Hussein *et al.* (10)- que los dos factores ambientales más importantes que influyen en la velocidad de los procesos de deterioro en el envejecimiento de semillas son la humedad relativa del aire, que controla el contenido de humedad de la semilla, y la temperatura. Esto se hace evidente al considerar que el tratamiento EASS se comporta igual al testigo y al EACS porque al reemplazar el agua del tratamiento EACH con una solución saturada se reduce la humedad relativa en el recipiente y con ello se retarda la absorción de agua por las semillas.

Pruebas de envejecimiento acelerado en semillas de *Prosopis alba*

Tabla 1: Porcentaje de plantas normales, anormales y semillas duras en *P. alba* de tres procedencias sometidas a diferentes tratamientos de envejecimiento acelerado.

Tratamiento	Rodal	Plantas normales*	Plantas anormales**	Semillas duras*	Semillas frescas***	Semillas muertas*
Testigo	Santiagoño	97,77 ±2,23	2,23 ±2,23	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00 <sup>a</sup>	0,00 ±0,00
	Chaqueño	93,33 ±3,84	6,67 ±3,84	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00 <sup>a</sup>	0,00 ±0,00
	Salta Norte	95,57 ±4,43	4,43 ±4,43	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00 <sup>a</sup>	0,00 ±0,00
	<i>Media general</i>	95,56 ±1,92	4,44 ±1,92 <sup>ab</sup>	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
EACH	Santiagoño	40,00 ±3,87 <sup>b</sup>	4,43 ±4,43	24,43 ±4,43 <sup>b</sup>	0,00 ±0,00 <sup>a</sup>	31,10 ±2,20 <sup>a</sup>
	Chaqueño	51,10 ±2,20 <sup>c</sup>	8,87 ±4,43	6,67 ±3,84 <sup>a</sup>	0,00 ±0,00 <sup>a</sup>	33,33 ±3,85 <sup>a</sup>
	Salta Norte	26,70 ±0,00 <sup>a</sup>	15,53 ±2,23	2,23 ±2,23 <sup>a</sup>	4,47 ±2,23 <sup>b</sup>	51,11 ±2,22 <sup>b</sup>
	<i>Media general</i>	39,26 ±3,76	9,63 ±2,51 <sup>b</sup>	11,11 ±3,85	1,48 ±0,98	38,52 ±3,47
EACS	Santiagoño	35,53 ±2,23 <sup>a</sup>	0,00 ±0,00	62,23 ±4,47 <sup>c</sup>	2,23 ±2,23 <sup>ab</sup>	0,00 ±0,00
	Chaqueño	64,43 ±8,02 <sup>b</sup>	4,43 ±2,23	31,3 ±5,88 <sup>b</sup>	0,00 ±0,00 <sup>a</sup>	0,00 ±0,00
	Salta Norte	97,77 ±2,23 <sup>c</sup>	0,00 ±0,00	2,23 ±2,23 <sup>a</sup>	0,00 ±0,00 <sup>a</sup>	0,00 ±0,00
	<i>Media general</i>	65,92 ±9,33	1,48 ±0,98 <sup>a</sup>	31,85 ±8,94	0,74 ±0,74	0,00 ±0,00
EASS	Santiagoño	60,00 ±3,87 <sup>a</sup>	2,23 ±2,23	37,77 ±2,23 <sup>c</sup>	0,00 ±0,00 <sup>a</sup>	0,00 ±0,00
	Chaqueño	75,53 ±9,68 <sup>ab</sup>	8,90 ±5,88	13,33 ±3,84 <sup>b</sup>	2,23 ±2,23 <sup>ab</sup>	0,00 ±0,00
	Salta Norte	88,90 ±2,20 <sup>b</sup>	4,47 ±2,23	2,23 ±2,23 <sup>a</sup>	0,00 ±0,00 <sup>a</sup>	4,45 ±2,22
	<i>Media general</i>	74,81 ±5,19	5,19 ±2,16 <sup>ab</sup>	17,78 ±5,44	0,74 ±0,74	1,48 ±0,98

Los resultados corresponden a los siete días a partir de la siembra. Resultados expresados en %. Se presentan las medias ±SEM. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0,05$ ). \*Análisis de comparación de medias particionado por tratamiento, por interacción significativa; \*\*Análisis de comparación de medias entre tratamientos; \*\*\*Análisis de comparación de medias considerando los factores de variación procedencia y tratamiento.

***PG, EG e IE al séptimo día; TMG y VG para un plazo de 200 días:***

La presencia de diferencias significativas en la interacción (Procedencia\*Tratamiento) indica que las procedencias responden de manera diferente en todos los tratamientos y que la respuesta de la variable PG no es independiente para ambos factores (procedencia y tratamiento).

En la Tabla 2 puede apreciarse que el tratamiento testigo en las tres procedencias alcanza el 100% de germinación. El EACH determinó que la procedencia Chaco (60%) resulta estadísticamente superior a las procedencias Santiago del Estero (44,47%) y Salta Norte (42,23%) que son similares al comparar los porcentajes de germinación logrados. Frente al calor seco las semillas provenientes del rodal Santiagueño son las que más ven afectado su porcentaje de germinación (35,53%); las oriundas de Chaco presentan un valor intermedio (68,9%) y las de Salta Norte reducen ligeramente su poder germinativo (97,77%). Estos datos indicarían que el tratamiento de calor seco sería más efectivo en el análisis de envejecimiento acelerado para las semillas provenientes del rodal Santiagueño y en menor medida para la procedencia Chaco, no así para las semillas provenientes de Salta. Por último, el tratamiento con solución salina (EASS) afectó significativamente a las procedencias de Santiago del Estero (62,23%) y Chaco (84,43%), siendo este último menos afectado. Las semillas provenientes de Salta Norte no presentaron diferencias estadísticas significativas en relación al testigo. Estos resultados indican que el origen de Santiago del Estero fue el más afectado por los tratamientos, siendo el tratamiento calor seco (EACS) el más efectivo para este tipo de análisis, seguido por el EACH y por último el EASS. Similar comportamiento pre-

sentaron las semillas provenientes de Chaco, todos los tratamientos afectaron el PG, siendo el tratamiento EACH el más efectivo, seguido por EACS y EASS. El tratamiento con calor húmedo fue el único que afectó al PG de las semillas provenientes de Salta Norte, indicando que sería el único tratamiento que genera envejecimiento acelerado.

Al estudiar la variable EG se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, procedencias y la existencia de interacción (Procedencia\*Tratamiento). La significancia de interacción revela que la variable no es independiente ante los dos factores. Los tratamientos testigo, EACS y EASS no presentan diferencias entre sí para ninguna de las procedencias estudiadas; para esta variable el único tratamiento que presentó diferencias significativas entre procedencias fue el EACH ya que determinó que la procedencia Santiago del Estero (EG= 4,67) se diferencie estadísticamente de la Chaqueña (EG= 1) al requerir más días para alcanzar el 40% de germinación (Tabla 2).

Para el TMG se encontraron diferencias significativas para tratamiento, procedencia e interacción (Procedencia\*Tratamiento). El efecto de los tratamientos demostró que todas las procedencias se comportan igual en el tratamiento testigo pero se detectan diferencias en los tratamientos de envejecimiento: en todos los casos (EACH, EACS y EASS) la procedencia Santiagueña es estadísticamente diferente a Salta Norte y Chaco, mostrando valores de TMG más altos. Al comparar las medias considerando la interacción de los factores de variación procedencia y tratamiento (datos no mostrados), se detecta que las semillas de Santiago del Estero muestran el mayor aumento del TMG cuando son sometidas a EACS.

Esta mayor susceptibilidad de las semi-

llas Santiagueñas podría explicarse con los datos obtenidos del efecto de la procedencia, donde la misma muestra un TMG significativamente mayor (16,99 días en promedio) respecto de las procedencias Chaco (6,51) y Salta Norte (1,60). La tabla 2 exhibe que las semillas del rodal Santiagueño sometidas a calor seco fueron las que mostraron la peor performance para el TMG (39 días) y PG (35,53%). Esta información debe complementarse considerando el efecto del calor sobre el contenido de humedad de las semillas y el consecuente efecto de la deshidratación sobre la velocidad de la germinación.

El ANAVA del VG fue significativa para los factores procedencia y tratamiento, no así para la interacción entre ambos. En este sentido la procedencia Salta Norte resultó significativamente superior (4674,4 en promedio) a las procedencias Chaco (1866,85) y Santiago del Estero (1819,19), que resultaron iguales entre sí. Al evaluar el efecto de los tratamientos, es el testigo el único que resulta ser estadísticamente superior a todos los métodos de EA aplicados (Tabla 2). El valor de germinación es una expresión numérica de la germinación y resulta un valor cercano a cero cuando la germinación es relativamente baja y cuanto más se aleje de éste, tiende a ser alto y refleja la calidad de las simientes. Cada tratamiento de EA tiene un efecto contundente sobre el VG y en consecuencia los valores más altos observados en la Tabla 2 se corresponden con los testigos de las procedencias Santiago del Estero y Chaco y el testigo y el tratamiento EASS para Salta Norte.

El análisis de los datos del IE mostró diferencias significativas para procedencia, tratamiento e interacción. El tratamiento con calor húmedo genera un IE estadísticamente menor en la procedencia Chaqueña (0,4) respecto de la Santiagueña (0,56) y

Salta Norte (0,58), que no muestran diferencias entre ellas. El EACS muestra diferencias entre las tres procedencias: el IE es mínimo en las semillas de Salta Norte (0,02), se incrementa ligeramente para la procedencia Chaco (0,31) y alcanza el máximo valor en las semillas del rodal Santiagueño (0,64). El efecto del EASS es superior en la procedencia Santiago del Estero en relación a las procedencias Chaco (0,16) y Salta Norte (0,07) que no resultan estadísticamente diferentes. Estos resultados ponen de manifiesto que los factores tratamiento y procedencia interaccionan, registrándose que las semillas de Chaco y Santiago del Estero incrementan su IE respecto del testigo (IE= 0) cuando se les efectúa algún tratamiento de EA mientras que las de Salta Norte solo se ven afectadas ante el calor húmedo. En este sentido, el EACH sería un tratamiento aplicable para evaluar el vigor de todas las procedencias.

La disminución de la germinación conforme el aumento de temperatura del envejecimiento acelerado se atribuye a que al incrementar esta variable se aceleran los procesos fisiológicos de la semilla, con lo que aumenta su deterioro y en consecuencia una disminución en el vigor (9). El deterioro por alta temperatura se acentúa en presencia de elevada humedad ambiental pues en dichas condiciones las semillas absorben humedad y, como mencionan Madruga de Tunes *et al.* (17), son más afectadas por el envejecimiento acelerado; en contraposición, la adición de sal determina una humedad relativa más baja y evita que las semillas absorban gran cantidad de agua, determinando ello una menor o nula disminución del vigor en el EASS respecto del EACH. La secuencia hipotética del proceso de deterioro de semillas implica una degradación de las membranas celulares,

reducción de la actividad respiratoria y biosintética, menor velocidad de germinación, reducción del potencial de conservación durante el almacenamiento, menor tasa de crecimiento, menor uniformidad, mayor sensibilidad frente a adversidades del ambiente, reducción de la emergencia de plántulas en campo, o aumento de plantas anormales y, finalmente, la pérdida del poder germinativo (6). Las modificaciones en la tasa y velocidad de germinación responderían a la alteración de los procesos metabólicos causados por daños de la membrana y la necesidad de mecanismos de reparación que se llevan a cabo. Cuando el estrés es excesivo, las células no pueden revertir los

Tabla 2: Efecto del envejecimiento acelerado sobre la germinación de semillas de *Prosopis alba* de tres procedencias geográficas.

Tratamiento	Rodal	PG (%)*	EG (días)*	TMG (días)*	VG**	IE*
Testigo	Santiagoño	100 ±0,0	1,00 ±0,0	1,11 ±0,1	7185,00 ±2815,0	0,00 ±0,00
	Chaqueño	100 ±0,0	1,00 ±0,0	1,13 ±0,1	5777,22 ±2188,8	0,00 ±0,00
	Salta Norte	100 ±0,0	1,00 ±0,0	1,00 ±0,0	10000 ±0,0	0,00 ±0,00
	Media general	100 ±0,0	1,00 ±0,0	1,08 ±0,05	7654,07 ±1202,01 <sup>b</sup>	0,00 ±0,00
EACH	Santiagoño	44,47 ±2,2 <sup>a</sup>	4,67 ±1,2 <sup>b</sup>	7,44 ±1,3 <sup>b</sup>	31,83 ±14,4	0,56 ±0,02 <sup>b</sup>
	Chaqueño	60,00 ±3,9 <sup>b</sup>	1,00 ±0,0 <sup>a</sup>	2,84 ±1,5 <sup>a</sup>	1143,85 ±858,3	0,40 ±0,04 <sup>a</sup>
	Salta Norte	42,23 ±2,2 <sup>a</sup>	3,00 ±1,0 <sup>ab</sup>	2,34 ±0,0 <sup>a</sup>	192,57 ±28,7	0,58 ±0,02 <sup>b</sup>
	Media general	48,90 ±3,14	2,89 ±0,7	4,21 ±0,99	456,008 ±302,62 <sup>a</sup>	0,51 ±0,03
EACS	Santiagoño	35,53 ±2,2 <sup>a</sup>	6,67 ±2,8 <sup>ab</sup>	38,73 ±10,0 <sup>b</sup>	15,52 ±3,0	0,64 ±0,02 <sup>c</sup>
	Chaqueño	68,90 ±5,9 <sup>b</sup>	1,00 ±0,0 <sup>a</sup>	13,63 ±7,2 <sup>a</sup>	393,07 ±337,2	0,31 ±0,06 <sup>b</sup>
	Salta Norte	97,77 ±2,2 <sup>c</sup>	1,00 ±0,0 <sup>a</sup>	1,15 ±0,1 <sup>a</sup>	2201,70 ±1337,0	0,02 ±0,02 <sup>a</sup>
	Media general	67,40 ±9,19	2,89 ±1,25	17,84 ±6,58	870,08 ±521,76 <sup>a</sup>	0,33 ±0,09
EASS	Santiagoño	62,23 ±2,2 <sup>a</sup>	1,00 ±0,0	20,69 ±1,9 <sup>b</sup>	44,42 ±10,1	0,38 ±0,02 <sup>b</sup>
	Chaqueño	84,43 ±4,4 <sup>b</sup>	1,00 ±0,0	8,42 ±2,9 <sup>a</sup>	153,30 ±76,7	0,16 ±0,04 <sup>a</sup>
	Salta Norte	93,33 ±3,8 <sup>b</sup>	1,00 ±0,0	1,93 ±0,9 <sup>a</sup>	6303,00 ±3073,0	0,07 ±0,04 <sup>a</sup>
	Media general	80,00 ±4,97	1,00 ±0,0	10,35 ±2,94 <sup>ab</sup>	2167,02 ±1362,79 <sup>a</sup>	0,20 ±0,05

EACS= envejecimiento acelerado con calor seco, EACH = envejecimiento acelerado con calor húmedo, EASS = envejecimiento acelerado con solución salina. PG = porcentaje de germinación, EG = energía germinativa, TMG= tiempo medio de germinación máxima y VG= valor de germinación, IE= índice de envejecimiento. Se presentan las medias ±SEM. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0,05$ ). \*Análisis de comparación de medias particionado por tratamiento, por interacción significativa; \*\*Análisis de comparación de medias entre tratamientos.

cambios bioquímicos pues los mecanismos de reparación no tienen la capacidad (13). Es decir que la germinación puede ser demorada hasta que la reparación se complete o, de lo contrario, ser el daño tan vasto que determine que ésta no sea efectiva.

Frecuentemente, se observa que lotes de semillas que presentan un porcentaje de germinación semejante exhiben un comportamiento distinto en campo o en almacenamiento. Estas diferencias en el comportamiento de lotes con un porcentaje de germinación semejante pueden deberse a que las primeras alteraciones en los procesos bioquímicos asociados al deterioro ocurren generalmente, antes que se verifiquen disminuciones en la capacidad germinativa. Por eso las pruebas de vigor son de gran utilidad en el monitoreo de la calidad de semillas, aportando mayor seguridad para el productor, ya que este parámetro es heredable y puede manejarse genéticamente (7). El análisis de la varianza realizado puso de manifiesto las diferencias significativas para procedencia, tratamiento e interacción entre el material evaluado y los tratamientos de EA estudiados. No obstante es posible afirmar mediante el valor de la suma de cuadrados que la variación total atribuible al factor "tratamiento" es superior (12469,93) a la atribuible a la "procedencia" (3438,61), de modo que el tratamiento tiene más peso y representa el factor principal.

## CONCLUSIONES

Los resultados permitieron tener un conocimiento más objetivo y preciso del vigor del material de propagación procedente de áreas geográficas distintas, aunque se reconoce necesario realizar más estudios en la temática para desarrollar una metodología de trabajo de estimación del vigor de las semillas de *Prosopis alba* que además incorpore en el análisis la interacción de las propiedades bióticas y abióticas (las expresiones de la viabilidad, la dormición, la germinación y la emergencia) que influyen en las semillas y determinan el nivel de actividad y su comportamiento a través del tiempo.

En cuanto al método para valorar vigor, dada la existencia de interacción entre factores, el procedimiento que puede aplicarse de modo general en las procedencias estudiadas sería el EACH pues es el único que determina un IE estadísticamente diferente al testigo en semillas provenientes del rodal Salta Norte, procedencia que no se ve afectada por los efectos del EACS y el EASS.

Por otra parte, los resultados de los ensayos con su correspondiente interpretación estadística permitieron clasificar a las tres procedencias según su vigor medido a través del IE luego de la prueba de EACH: el rodal Chaqueño resulta superior a los rodales Santiagueño y Salta Norte, que son similares entre sí. Esta distinción lograda demuestra la importancia de complementar las pruebas de germinación estándar (PG y EG) con la evaluación de vigor al momento de determinar calidad en lotes de semillas.

Cabe considerar que la valoración determinada con las pruebas de vigor no debe considerarse estática en el tiempo. Acorde a lo expuesto, el vigor es afectado por la interacción de las especies con el ambiente y, como es sabido, las condiciones ambienta-

les son fluctuantes. De esta manera, el mejor desempeño para una muestra de semillas de un rodal de un determinado año puede variar respecto a los resultados provenientes de semillas de otro año de cosecha porque el ambiente materno fue determinante. Del mismo modo las condiciones de almacenamiento pueden afectar generando variaciones del vigor con el transcurso del tiempo. Contemplando estos argumentos surge la sugerencia de testear su evolución.

### AGRADECIMIENTOS

A la Secretaría General de Ciencia y Técnica, UNNE (PI N° 014/10, 001/14), la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICTO N° 0213-2011), al PNFOR INTA 1104063 y a la Lic. Mónica Spoljaric (INTA EEA Sáenz Peña).

### BIBLIOGRAFIA

1. ASSOCIATION OFFICIAL SEED ANALYSIS (AOSA). 2014. Seed vigour-testing handbook. Lincoln, USA. AOSA. 88pp.
2. AYALA-GARAY, O.; PICHARDO-GONZÁLEZ, J.; ESTRADA-GÓMEZ, J.; CARRILLO-SALAZAR, J.; HERNÁNDEZ-LIVERA, A. 2006. Yield and seed quality of ayocote bean at the valley of Mexico. *Agricultura Técnica en México* (32), 313-321.
3. COPELAND, L.; MCDONALD, M. 2012. Principles of Seed Science and Technology. Springer Science & Business Media. 467pp.
4. CZABATOR, F. 1962. Germination value: an index combining speed and completeness of pine seed germination. *Forest Science* (8), 386-396.
5. DAWS, M.I., CLELAND, H., CHMIELARZ, P., GORIAN, F., LEPRINCE, O., MULLINS, C.E., THANOS, C.A., VANDVIK, V.; PRITCHARD, H.W. 2006. Variable desiccation tolerance in *Acer pseudo-platanus* seeds in relation to developmental conditions: a case of phenotypic recalcitrance? *Functional Plant Biology*, 33: 59-66.
6. DELOUCHE, J.; BASKIN, C. 1996. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. *Seed Science Technology* (1), 427-452.
7. ESPINOSA-CALDERÓN, A.; TADEO-ROBLED, M.; TINOCO-GONZÁLEZ, L.; MARTÍNEZ MENDOZA, R.; TELLEZ, C.; GONZÁLEZ-ROJO, I.; VALDIVIA BERNAL, R.; CABALLERO-HERNÁNDEZ, F.; SIERRA-MACÍAS, M.; GÓMEZ-MONTIEL, N.; PALAFOX-CABALLERO, A. & ZAMUDIO-GONZÁLEZ, B. 2009. Épocas de cosecha, productividad y tamaño de semilla con relación al vigor de dos híbridos de maíz. *Agricultura Técnica en México* 35 (2), 169-177.
8. FONTANA, L.; PÉREZ, V.; LUNA, C. 2014. Efecto de tratamientos pre-germinativos sobre los parámetros de vigor en semillas de *Prosopis alba* de diferentes procedencias geográficas. Comunicación presentada en la XXVI° Reunión de comunicaciones científicas, técnicas y de extensión de la Facultad de Ciencias Agrarias -UNNE. Corrientes, Argentina.
9. HERNÁNDEZ-FLORES, E. 2010. Métodos de escarificación y prueba de envejecimiento acelerado en semillas de *Brachiaria brizantha* cv. Insurgente. Tesis de Maestro en Ciencias. Postgrado de recursos genéticos y productividad ganadera. Montecillo, México. 79pp.
10. HUSSEIN J., H.; ABDULLA I., S.; ODA M., Y. 2013. Effect of Accelerated Aging Conditions on Viability of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Seeds. *Euphrates Journal of Agriculture Science* 3 (3), 1-9.

11. **INFOSTAT.** 2008. InfoStat Professional, Versión 1.1. Manual del Usuario, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
12. **JIANHUA, Z.; MCDONALD, M.** 1996. The saturated salt accelerated ageing test for small-seeded crops. *Seed Science Technology* (25), 123-131.
13. **KAEWNAREE, P.; VICHITPHAN, S.; KLANRIT, P.; SIRI, B.; K. VICHITPHAN.** 2011. Effect of accelerated aging process on seed quality and biochemical changes in sweet pepper (*Capsicum annuum* Linn.) seeds. *Biotechnology* (2), 175-182.
14. **LEHNER, A.; MAMADOU, N.; POELS, P.; CÔME, D.; BAILLY, C.; CORBINEAU, F.** 2008. Changes in soluble carbohydrates, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the embryo during ageing in wheat grains. *Journal of Cereal Science* (47), 555-565.
15. **LI, A.; HERRERA, J.; BARBOZA, R.** 1996. Efecto del envejecimiento acelerado sobre la germinación y el vigor de la semilla de China Sultani (*Impatiens wallerana*) en almá-cigo. *Agronomía Costarricense* (20), 173-180.
16. **LIMA, C.; ATHANÁZIO, J.; BELLETTI-NI, N.** 2006. Germinação e vigor de sementes de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.) submetidas ao envelhecimento acelerado. *Semina: Ciências Agrárias* (27), 159-170.
17. **MADRUGA DE TUNES, L.; CICILIANO TAVARES, L.; DE ARAÚJO RUFINO, C.; FERNANDES VIEIRA, J.; DOS SANTOS ACUNHA, T.; SOUZA ALBUQUERQUE BARROS, A.; BRIÃO MUNIZ, M.** 2011. Accelerated aging of onion seeds (*Allium cepa* L.) submitted to saturated salt solution. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* (5), 244-250.
18. **MARCOS FILHO J.; NOVENBRE A.D.C. Y CHAMMA H.M.C.P.** 2001. Testes de envelhecimento acelerado e de deterioração controlada para avaliação do vigor de sementes de soja. *Scientia Agrícola*, 58:421-426.
19. **MBORA, A.; SCHMIDT, L.; ANGAINE, P.; MESO, M.; OMONDI, W.; AHENDA, J.; LILLESO, J.-P.B.; MWANZIA, J.M.; MUTUA, N.A.; MUTUA WANGU, R. Y JAMNADASS, R.** 2009. Tree seed quality guide. World Agroforestry Centre, Nairobi, Kenya. 28pp.
20. **NAVARRO BOULANDIER, M. Y FEBLES PÉREZ, G.J.** 2000. Manual metodológico: Evaluación del vigor de las semillas a través de indicadores del crecimiento y el desarrollo inicial. Editorial Universitaria. 46pp.
21. **SÁNCHEZ-ENRÍQUEZ, G.; RAMOS-MARTÍNEZ, E., DURÁN-HERNÁNDEZ, D.; LAZCANO-RAMÍREZ, H.; GUTIÉRREZ, G.** 2008. Estudios bioquímicos y fisiológicos sobre la calidad biológica de la semilla de maíz azul. Actas V Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica- XVI Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica y VI Jornadas Científicas de Biomedicina y Biotecnología Molecular. Distrito Federal, México. 16pp.
22. **SHU-YAN, M.** 2010. Study on Seed Vigor of *Pinus flexilis* James [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences* (4), 177.
23. **SILVA, J.; NAKAGAWA, J.** 1995. Estudio de Fórmulas para cálculo da velocidade de germinação. *Informativo Abrates* (5), 62-73.
24. **SOSA MÉNDEZ, J.** 2004. Efecto de la deshidratación sobre la germinación de semillas de caimito (*Chrysophyllum cainito* L.) y jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado Académico de Licenciatura. Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria. Universidad de Zamorano, Honduras. 12pp.
25. **WANG, B.; DOWNIE, B.; WETZEL, S.; PALAMAREK, D.; HAMILTON, R.** 1992. Effects of cone scorching on germinability, and vigour of lodgepole pine (*Pinus contorta* var. latifolia) seeds in Alberta. *Seed Science and Technology* (20), 409-419.