

ANÁLISIS FÍSICO Y GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *Austrochthamalia teyucuarensis* H. A. KELLER, ENDÉMICA DEL BOSQUE ATLÁNTICO Y EN PELIGRO DE EXTINCIÓN

PHYSICAL ANALYSIS AND SEED GERMINATION OF *Austrochthamalia teyucuarensis* H. A. KELLER, ENDEMIC OF THE ATLANTIC FOREST AND IN DANGER OF EXTINCTION

Evelyn R. Duarte^{1,2,3*}, Belén González-Rondán³, Sandra P. Rocha³

¹Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Corrientes 3400, Argentina. ²Comité Ejecutivo de Desarrollo e innovación tecnológica (CEDIT), Posadas 3300, Argentina. ³Facultad de Ciencias Forestales (FCF)-Universidad Nacional de Misiones (UNaM), Eldorado 3380, Argentina evelynduarte1982@gmail.com; strforestal@gmail.com; procha910@gmail.com

RESUMEN

Austrochthamalia teyucuarensis H. A. Keller es una especie endémica del Bosque Atlántico (uno de los “hot spot” del planeta), con potencial ornamental y en peligro crítico. El sustrato influye en la germinación y el análisis biométrico de semillas y frutos es fundamental para caracterizar la especie. El objetivo de este estudio fue analizar las características físicas de frutos y semillas y su germinación en papel, arena, perlita y arenisca como sustratos. Los frutos de *A. teyucuarensis* cosechados, en abril de 2017 en la reserva de Teyú Cuaré, localidad de San Ignacio, Misiones, Argentina, presentaron longitud promedio de 6.02 ± 0.99 cm, anchura de 3.25 ± 0.52 cm, peso promedio de 25.59 ± 1.71 g y cantidad de semillas por fruto de 59.17 ± 28.72 . Las semillas fueron elipsoides-aplanadas, color castaño oscuro a marrón claro, con longitud de 8.82 ± 0.47 mm, anchura de 6.61 ± 0.31 mm, y biomasa promedio de 49.46 ± 8.04 mg. La germinación (85.55 ± 1.92 %) y velocidad de germinación (3.46 ± 0.21 semillas por día) mayores se presentaron en la perlita y la supervivencia mayor de plantas se obtuvo en la arenisca. El tipo de sustrato afecta la germinación de *A. teyucuarensis* y su conservación a largo plazo.

Palabras claves: Apocynaceae, *Austrochthamalia teyucuarensis*, fruto, germinación, sustrato.

ABSTRACT

Austrochthamalia teyucuarensis H. Keller is an endemic species of the Atlantic Forest (one of the “hot spots” on the planet), with ornamental potential and endangered. The substrate influences the germination and the biometric analysis of seeds and fruits is fundamental to characterize the species. The objective of this study was to analyze the physical characteristics of fruits and seeds and their germination in substrates of paper, sand, perlite and sandstone. The fruits of *A. teyucuarensis* harvested in April 2017 in the Teyú Cuaré reserve, San Ignacio, Misiones, Argentina, presented an average length of 6.02 ± 0.99 cm, 3.25 ± 0.52 cm wide, average weight of 25.59 ± 1.71 g and seeds per fruit amounting to 59.17 ± 28.72 . The seeds were ellipsoid-flattened, dark brown to light brown, of 8.82 ± 0.47 mm long, width of 6.61 ± 0.31 mm, and an average biomass of 49.46 ± 8.04 mg. The germination ($85.55 \pm 1.92\%$) and speed of germination (3.46 ± 0.21 seeds per day) were greater in perlite and the greater survival of plants was observed in the sandstone. The type of substrate affects the germination of *A. teyucuarensis* and its long-term conservation.

Key words: Apocynaceae, *Austrochthamalia teyucuarensis*, fruit, germination, substrate

INTRODUCTION

The Atlantic Forest is one of the most diverse and threatened ecoregions in the world, and 40 % of the 20 000 species that inhabit it are endemic (Myers *et al.*, 2000). The Upper Parana Atlantic Forest is one of the 15 ecoregions

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: enero, 2018. Aprobado: septiembre, 2018.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 53: 403-416. 2019.

INTRODUCCIÓN

El Bosque Atlántico es una de las ecorregiones más diversas y amenazadas del mundo, y se caracteriza porque 40 % de las 20 000 especies que la habitan son endémicas (Myers *et al.*, 2000). La Selva Atlántica del Alto Paraná es una de las 15 ecorregiones en el Bosque Atlántico; en ella se localiza el Parque Provincial Teyú Cuaré (San Ignacio, Misiones, Argentina), reconocido por su flora y fisonomía, con paisaje de características únicas en suelo de arenisca, que podría ser un relicto de un bioma Cerrado (Teruggi, 1970; Cabrera, 1976; Di Bitetti *et al.*, 2003; Velazco *et al.*, 2018). La importancia e interés por este parque es mundial por sus condiciones climáticas, geológicas, edáficas, topográficas, históricas-culturales y representar un hábitat particular, que mantiene especies raras y endémicas. En este parque crecen 12 especies que son endémicas (Bertolini, 2005). Una de ellas es *Austrochthamalia teyucuaensis* H. A. Keller y crece en los pastizales arbolados del parque. Es un sufrútice procumbente de hasta 1.5 m, con raíces carnosas y gruesas, hojas hirsutas opuesta e inflorescencias subaxilares. Por el aspecto y coloración de las flores, la planta tiene potencial alto como ornamental. Según los criterios de la IUCN (International Union for Conservation of Nature) esta especie podría estar en peligro crítico porque la única población conocida posee solo unos 60 ejemplares (IUCN, 2001; Keller, 2015). Esta especie se identificó recientemente y la información de ella es incipiente, por lo cual el estudio de su morfología y fisiología permitirá conocer características de su crecimiento y desarrollo. La biometría de frutos y semillas puede ser una herramienta para diferenciar especies, identificar variabilidad genética dentro de poblaciones de una especie, entre individuos en un área y en estudios ecológicos de una especie, dispersión y germinación de las semillas y establecimiento de plántulas (Oliveira, 1993; Amorim *et al.*, 1997; Matheus y Lopes, 2007; Souto *et al.*, 2008). Los estudios biométricos y morfológicos de frutos y semillas, como la germinación y el crecimiento de las plantas en los estadios iniciales, es útil para seleccionar plantas vigorosas, con uniformidad y de rápido crecimiento (Cosmo *et al.*, 2009; Huerta y Rodríguez, 2011). En este sentido, es relevante conocer la biometría de frutos y semillas, así como el proceso de germinación en

in the Atlantic Forest; it is home to the Teyú Cuaré Provincial Park (San Ignacio, Misiones, Argentina), renowned for its flora and physiognomy, with a landscape of unique characteristics in sandstone soil, which could be the relict of a closed biome (Teruggi, 1970; Cabrera, 1976; Di Bitetti *et al.*, 2003; Velazco *et al.*, 2018).

The importance of and interest in this park are worldwide due to its climatic, geological, edaphic, topographical, historical-cultural conditions and because it has a particular habitat, which harbors rare and endemic species. In this park, there are 12 endemic species (Bertolini, 2005). One of them is *Austrochthamalia teyucuaensis* H. Keller and grows in the wooded pastures of the park. It is a procumbent suffrutescent of up to 1.5 m, with fleshy and thick roots, opposite hirsute leaves and subaxillary inflorescences. Because of the appearance and coloration of the flowers, the plant has high potential as ornamental. According to criteria by the IUCN (International Union for Conservation of Nature) this species could be in critical danger because the only known population has only about 60 specimens (IUCN, 2001; Keller, 2015). This species was recently identified and the information about it is incipient, so the study of its morphology and physiology will allow to know characteristics of its growth and development.

The biometry of fruits and seeds can be a tool to differentiate species, identify genetic variability within populations of a species, between individuals in an area and in ecological studies of a species, dispersion and germination of seeds and establishment of seedlings (Oliveira, 1993, Amorim *et al.*, 1997, Matheus and Lopes, 2007, Souto *et al.*, 2008). Biometric and morphological studies of fruits and seeds, such as the germination and growth of plants in the early stages, are useful for selecting vigorous plants, with uniformity and rapid growth (Cosmo *et al.*, 2009, Huerta and Rodríguez, 2011). In this sense, it is relevant to know the biometry of fruits and seeds, as well as the process of germination at the moment of carrying out enrichment programs for degraded areas (Vázquez and Aréchiga, 1996). To manage and conserve populations of plant species, information on their life cycle is needed (Tálamo *et al.*, 2012).

The objective of this study was to analyze the biometric characteristics of mature fruits and seeds,

momento de realizar programas de enriquecimiento de áreas degradadas (Vázquez y Aréchiga, 1996). Para manejar y conservar poblaciones de especies vegetales se necesita la información de su ciclo de vida (Tálamo *et al.*, 2012).

El objetivo de este estudio fue analizar las características biométricas de frutos maduros y semillas, el efecto del sustrato en la germinación de semillas y supervivencia de plántulas de *A. teyucuarensis*. La hipótesis fue que la cantidad de semillas varía con el tamaño (anchura, longitud y peso) del fruto, el tamaño de estas semillas es similar al de otras Apocynaceae y el tipo de sustrato influye en la germinación y supervivencia de las plántulas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Frutos maduros de *A. teyucuarensis* se recolectaron, antes de la dehiscencia, en abril del 2017, en el Parque Provincial Teyú Cuaré (27° 16' 43.9" S y 55° 33' 44.9" O), localidad de San Ignacio, provincia de Misiones, Argentina. El suelo es ondulado formado por areniscas, el clima es subtropical sin estación seca, con precipitación anual aproximada de 1700 mm y temperatura promedio anual de 21 °C (Teruggi, 1970).

Después de la cosecha, los frutos en bolsas de papel se trasladaron al Laboratorio de Propagación Vegetativa de la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Nacional de Misiones, para evaluar la biometría y germinación. La longitud y anchura de frutos y semillas se midieron con un calibrador vernier digital (modelo No: STD Y MM 14388, precisión ± 0.1 mm); la biomasa se determinó en una balanza analítica (Marca Denver Modelo No: APX-200, precisión ± 0.0001 g).

El estudio se hizo en ocho repeticiones de ocho frutos cada una y en tres repeticiones de 50 semillas y se midieron longitud, anchura y peso de los frutos, pericarpios y semillas. La forma de la semilla se determinó con el índice de circularidad (IC), de acuerdo con la ecuación 1:

$$IC = \left(\frac{L}{W} \right) \quad (1)$$

donde L es longitud de la semilla y W la anchura. Valores iguales o próximos a 1 indican que la semilla es esférica, cíclica o elipsoide y mayores a 2 indican que la semilla es oblonga (Cerdá y García, 2002).

Los sustratos para la germinación fueron: 1) toallas de papel (rollo bobina de papel tissue doble de 24 cm x 400 m), 2) perlita

the effect of the substrate on seed germination and seedling survival of *A. teyucuarensis*. The hypothesis was that the amount of seeds varies with the size (width, length and weight) of the fruit; the size of these seeds is similar to that of other Apocynaceae and the type of substrate influences the germination and survival of the seedling

MATERIALS AND METHODS

Mature fruits of *A. teyucuarensis* were collected, before dehiscence, in April 2017, at the Teyú Cuaré Provincial Park (27° 16' 43.9" S and 55° 33' 44.9" W), locality of San Ignacio, Province of Misiones, Argentina. The soil is wavy formed by sandstones, the climate is subtropical without a dry season, annual rainfall of approximately 1700 mm and average annual temperature of 21 °C (Teruggi, 1970).

After the harvest, fruits were placed in paper bags and transferred to the Vegetative Propagation Laboratory of the Faculty of Forest Sciences of the National University of Misiones to evaluate the biometrics and germination. The length and width of fruits and seeds were measured with a digital vernier calibrator (model No: STD and MM 14388, precision ± 0.1 mm); the biomass was determined with an analytical balance (Denver Brand Model No: APX-200, precision ± 0.0001 g).

The study was done with eight repetitions of eight fruits each and three repetitions of 50 seeds. Length, width and weight of the fruits, pericarps and seeds were measured. The shape of the seed was determined with the circularity index (IC), according to equation 1:

$$IC = \left(\frac{L}{W} \right) \quad (1)$$

where L is the length of the seed and W the width. Values equal or close to 1 indicate that the seed is spherical, cyclic or ellipsoid, and those greater than 2 indicate that the seed is oblong (Cerdá and García, 2002).

The substrates for germination were: 1) paper towels (roll of double tissue paper of 24 cm x 400 m), 2) perlite (polyethylene bags of a commercial agribusiness), 3) sand (from a sand company on the banks of the Paraná River), and 4) the sandstone (soil of the collection site of fruits, Teyú Cuaré Provincial Park). The sand and sandstone were transferred to the laboratory in polyethylene containers of 10 L capacity.

The seeds washed with a commercial solution of 3 % hydrogen peroxide, for 5 min, were placed in plastic trays of

(bolsas de polietileno de una agropecuaria comercial), 3) arena (de una empresa arenera a orillas del río Paraná), y 4) la arenisca (suelo del sitio de recolecta de frutos, parque provincial Teyú Cuaré). La arena y la arenisca se trasladaron al laboratorio en recipientes de polietileno de 10 L de capacidad.

Las semillas lavadas con una solución comercial de peróxido de hidrógeno al 3 %, por 5 min, se colocaron en bandejas de material plástico de 9 x 12 x 4 cm, con: 1) toallas de papel, 2) perlita, 3) arena, o 4) arenisca humedecidos con agua. Las cajas con las semillas se mantuvieron en cámara con fotoperiodo de 14 h (PAR 116 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y a 27 ± 2 °C. Cada tratamiento incluyó 30 semillas por repetición (Dixon *et al.*, 1995; Zalazar *et al.*, 2009; Sanchez *et al.*, 2016). Durante cuatro semanas se contabilizó cada día la cantidad de semillas germinadas. Después se calculó la capacidad germinativa (CG) con la fórmula (Balocchi *et al.* 1998):

$$CG(\%) = \frac{G}{N} \times 100 \quad (2)$$

donde G es el número total de semillas germinadas, y N es el número total de semillas de cada repetición.

El tiempo medio de germinación (TMG) es indicador del tiempo (d) en que se alcanza 50 % de germinación y se calculó con la fórmula propuesta por Bewley y Black (1994):

$$TMG(\text{días}) = \frac{\sum D * n}{\sum nt} \quad (3)$$

donde D es el número de días registrados desde el comienzo de la germinación, n es el número de semillas germinadas en el día D , y nt es el número total de semillas sembradas.

El índice de velocidad de germinación (IVG) se calculó con la fórmula de Maguire (1962) :

$$IVG(\text{semillas germinadas/día}) = \sum_{n=1}^n \frac{Gi}{Ni} \quad (4)$$

donde Gi es el número de semillas germinadas, y Ni es la cantidad de días en que germinaron.

La supervivencia de las plántulas (porcentaje de plántulas que sobrevivieron del total que germinaron) se calculó después de 25 y 50 d del inicio de la germinación.

9 x 12 x 4 cm, with: 1) paper towels, 2) perlite, 3) sand, or 4) sandstone moistened with water. The boxes with the seeds were kept in a chamber with a 14-hour photoperiod (PAR 116 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), and at 27 ± 2 °C. Each treatment included 30 seeds per repetition (Dixon *et al.*, 1995; Zalazar *et al.*, 2009; Sánchez *et al.*, 2016). During four weeks, the amount of germinated seeds was counted every day. Then we calculated the germination capacity (CG) with the formula (Balocchi *et al.*, 1998):

$$CG(\%) = \frac{G}{N} \times 100 \quad (2)$$

where G is the total number of germinated seeds, and N is the total number of seeds of each repetition.

The average time of germination (TMG) is an indicator of the time (d) in which 50 % of germination is reached and was calculated with the formula proposed by Bewley and Black (1994):

$$TMG(\text{días}) = \frac{\sum D * n}{\sum nt} \quad (3)$$

where D is the number of days recorded since the beginning of germination, n is the number of seeds germinated on day D , and nt is the total number of seeds sown.

The germination speed index (IVG) was calculated with the formula by Maguire (1962):

$$IVG(\text{semillas germinadas/día}) = \sum_{n=1}^n \frac{Gi}{Ni} \quad (4)$$

where Gi is the number of germinated seeds, and Ni is the number of days in which they germinated.

The survival of the seedlings (percentage of seedlings that survived from the total that germinated) was calculated after 25 and 50 d since the beginning of germination.

Experimental design and analysis of results

The experimental design for the physical and germination analysis was completely randomized. With the biometric data, we calculated the descriptive statistics and the Pearson correlation coefficient between the fruit and seed variables, to finally obtain BoxPlot and frequency charts.

Diseño experimental y análisis de resultados

El diseño experimental para el análisis físico y de germinación fue completamente aleatorizado. Con los datos biométricos se calcularon los estadísticos descriptivos, se estimó el coeficiente de correlación de Pearson entre las variables del fruto y la semilla y se obtuvieron gráficos Boxplot y de frecuencias.

Las variables de germinación se transformaron a $\arcseno(\sqrt{x}/100)$ para obtener la normalidad y homogeneidad de variancias, verificadas mediante la prueba de Shapiro Wilk.

Los resultados se analizaron por ANDEVA y la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) con INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2016).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis físico de frutos y semillas

El fruto de *A. teyucuarensis* es un folículo ovoide (Keller, 2015) multiseminado con dehiscencia ventral simple cuando está maduro. El pericarpio representó 86.62 ± 2.19 % del peso total del fruto (Cuadro 1). La longitud fue de 4,5 a 7,5 cm y la anchura aproximada fue la mitad de la longitud (Figura 1 A - C). Los resultados fueron similares a los documentados por Keller (2015). Las variaciones en la longitud y peso de los frutos son originadas por factores ambientales durante la floración y esto puede ocasionar variabilidad genética poblacional (Silva *et al.*, 2014).

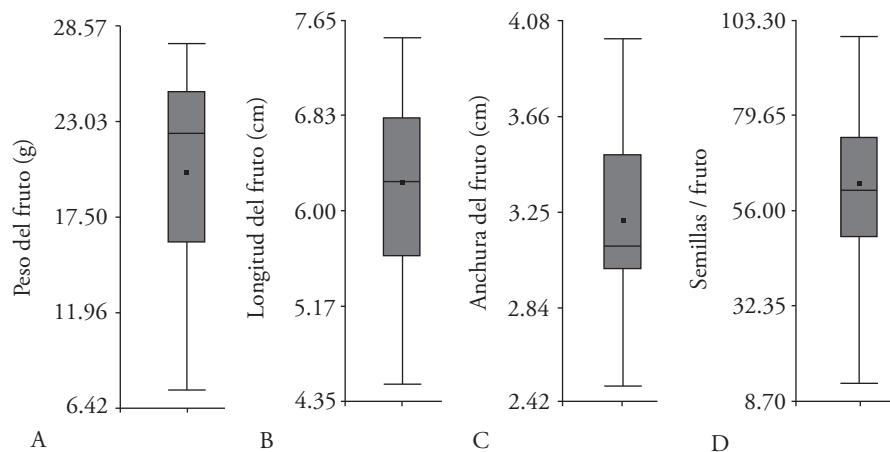


Figura 1. Biomasa y dimensiones del fruto. Boxplot referente al peso (A), longitud (B), anchura (C), número de semillas por fruto (D).

Figure 1. Figure 1. Biomass and fruit dimensions. Boxplot referring to weight (A), length (B), width (C), number of seeds per fruit (D).

Cuadro 1. Características físicas de frutos de *A. teyucuarensis*. San Ignacio, Misiones, Argentina. 2017.

Table 1. Physical characteristics of fruits of *A. teyucuarensis*. San Ignacio, Misiones, Argentina. 2017.

Variable	Valor promedio \pm SE [†]
Peso del fruto (g)	25.59 \pm 1.71
Peso del pericarpio (g)	22.15 \pm 1.04
Longitud del fruto (cm)	6.02 \pm 0.99
Anchura del fruto (cm)	3.25 \pm 0.52
Semilla por fruto	59.17 \pm 28.72
Semillas llenas por fruto	46.67 \pm 29.45
Semillas vanas por fruto	12.50 \pm 14.49

[†]SE: error estándar \diamond [†]SE: standard error.

The germination variables were transformed to $\arcseno(\sqrt{x}/100)$ to obtain the normality and homogeneity of variancias, verified by the Shapiro Wilk test.

The results were analyzed by ANDEVA and the Tukey test ($p \leq 0.05$) with INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2016).

RESULTS AND DISCUSSION

Physical analysis of fruits and seeds

The fruit of *A. teyucuarensis* is an ovoid follicle (Keller, 2015) multiseminate with simple ventral dehiscence when mature. The pericarp represented 86.62 ± 2.19 % of the total weight of the fruit (Table

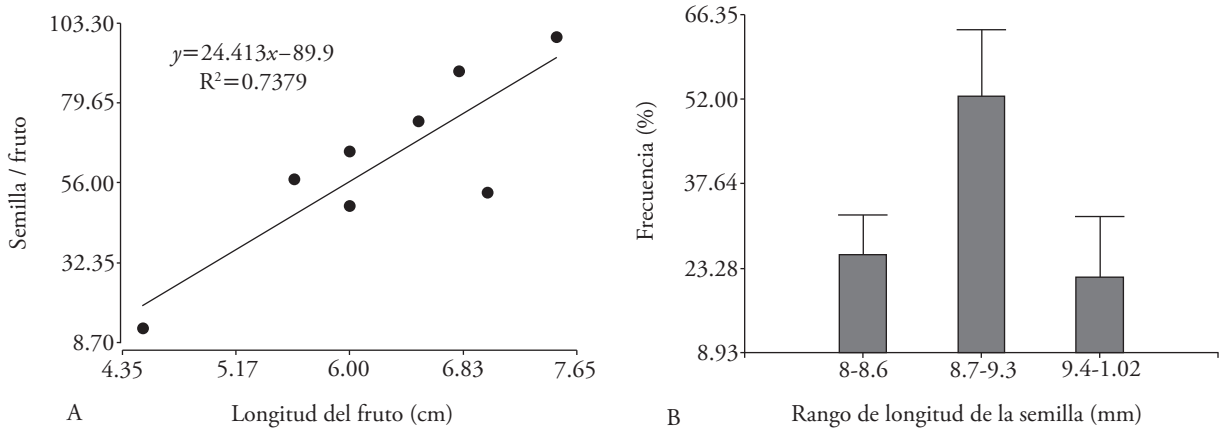


Figura 2. Relación entre la longitud del fruto y el número de semillas (A). Distribución de frecuencia de longitud (B) de las semillas de *A. teyucuarensis*. San Ignacio, Misiones, Argentina, 2017.

Figure 2. Relationship between the length of the fruit and the number of seeds (A). Length frequency distribution (B) of the seeds of *A. teyucuarensis*. San Ignacio, Misiones, Argentina, 2017.

Cincuenta por ciento de los frutos presentaron de 51 a 75 semillas, 33.40 % mostró menos de 50 semillas y 16.70 % tuvieron de 76 a 99 semillas; la cantidad de semillas por fruto fue de 13 a 99 (Figura 1 D); la cantidad de semillas en los frutos de 6.5 a 7.5 cm fue mayor.

La correlación entre la longitud del fruto y el número de semillas por fruto (Figura 2 A) fue positiva y significativa ($R=0.86$, $p=0.0063$). Esta relación también se presentó en frutos de *Stenocereus beneckeii* (Ehrenb.) Buxb (Ayala *et al.*, 2004), *Citrus clementina* Hort. ex. Tanaka (Chao, 2005) y *Aspidosperma quebracho-blanco* Schlecht (Tálamo *et al.*, 2012). Casas *et al.* (1999) indicaron que la relación similar de tamaño del fruto y cantidad de semilla se asocia con la domesticación de la especie.

La relación entre el tamaño del fruto y la cantidad de semillas permite estimar la cantidad de semillas por fruto, y con alguno de estos valores podrían seleccionarse frutos que faciliten la propagación (Rocas *et al.*, 2007; Pece *et al.*, 2008; Morales *et al.*, 2010). La correlación entre peso del fruto y longitud, anchura o cantidad de semillas no fue significativa y tampoco con las dimensiones de las semillas. Estos resultados corroboraron parcialmente la hipótesis, pues la relación fue positiva entre la longitud del fruto y la cantidad de semillas, pero no con la anchura o el peso.

La variación en el tamaño de las semillas fue mínima entre los tamaños de los frutos. Las semillas con

1). It was 4.5 to 7.5 cm long and the approximate width was half the length (Figure 1 A - C).

The results were similar to those documented by Keller (2015). Variations in the length and weight of the fruits are caused by environmental factors during flowering and this can cause population genetic variability (Silva *et al.*, 2014).

Fifty percent of the fruits had 51 to 75 seeds, 33.40 % showed less than 50 seeds and 16.70 % had 76 to 99 seeds; the amount of seeds per fruit was from 13 to 99 (Figure 1 D); the amount of seeds in the fruits of 6.5 to 7.5 cm was higher.

The correlation between the length of the fruit and the number of seeds per fruit (Figure 2 A) was positive and significant ($R=0.86$, $p=0.0063$). This relationship was also present in fruits of *Stenocereus beneckeii* (Ehrenb.) Buxb (Ayala *et al.*, 2004), *Citrus clementina* Hort. ex. Tanaka (Chao, 2005) and *Aspidosperma quebracho-blanco* Schlecht (Tálamo *et al.*, 2012). Casas *et al.* (1999) indicated that the similar relationship of fruit size and amount of seeds is associated with the domestication of the species.

The relationship between the fruit size and the amount of seeds allows us to estimate the amount of seeds per fruit, and with some of these values it could be possible to select fruits that facilitate propagation (Rocas *et al.*, 2007, Pece *et al.*, 2008; Morales *et al.*, 2010). The correlation between the fruit weight and the length, width or number of seeds was not significant, nor with the dimensions of the seeds.

longitud promedio inferior a 8.7 mm representaron 25.64 ± 11.75 % y entre 8.7 y 9.3 mm representaron 52.56 ± 19.36 % (Figura 2 B). Las semillas con anchura promedio entre 6.1 y 7.1 mm representaron 57.69 ± 15.38 %, con 5.0 a 6.0 mm 35.89 ± 15.54 % y con 7.2 a 8.2 mm solo 6.41 ± 3.67 % (Figura 3 A). La longitud y anchura promedio más frecuentes en las semillas fueron 9.0 mm y 7.0 mm. La longitud es indicador del tamaño de la semilla y su incremento es significativo, en contraste con su anchura y espesor (Mack, 1993; Mazer y Wheelwright, 1993; Forget *et al.*, 2007).

El tamaño y peso de la semilla es un indicador de calidad fisiológica porque estos parámetros se correlacionan positivamente con el vigor de las plantas. Semillas con tamaño o peso mayores pueden germinar más y generar plantas vigorosas (Aguiar, 1995; Rendón *et al.*, 2002; Aráoz *et al.*, 2004; de Padua *et al.*, 2010) con capacidad mayor de supervivencia (Wulff, 1986).

En nuestro estudio 44.87 ± 19.74 % de las semillas pesaron en promedio de 44 a 57 mg y el peso más frecuente fue 42 mg (Figura 3 B). Las semillas con longitud promedio de 8.0 a 8.6 mm mostraron variación en el peso similar a las de longitud mayor ($p=0.0823$). Las semillas de 8.0 a 8.6 mm incluyeron a las vanas (entre 6.0 y 58.0 mg) y las de los intervalos de 8.7 a 9.3 y de 9.4 a 10.2 mm tuvieron de 34 a 63 mg y de 43 a 65 mg (Figura 4). Así, el tamaño de

These results partially corroborated the hypothesis, since the relationship was positive between the fruit length and the number of seeds, but not with the width or weight.

Variation in the size of seeds was minimal among the fruit sizes. Seeds with average length less than 8.7 mm represented 25.64 ± 11.75 % and between 8.7 and 9.3 mm represented 52.56 ± 19.36 % (Figure 2 B). The seeds with average width between 6.1 and 7.1 mm represented 57.69 ± 15.38 %, with 5.0 to 6.0 mm 35.89 ± 15.54 %, and with 7.2 to 8.2 mm only 6.41 ± 3.67 % (Figure 3 A). The most frequent average length and width in the seeds were 9.0 mm and 7.0 mm. Length is an indicator of the size of the seed and its increase is significant, in contrast to its width and thickness (Mack, 1993, Mazer and Wheelwright, 1993, Forget *et al.*, 2007).

The size and weight of the seed are indicators of the physiological quality since these parameters correlate positively with the vigor of plants. Seeds of larger size or weight can germinate more and generate vigorous plants (Aguiar, 1995, Rendón *et al.*, 2002, Aráoz *et al.*, 2004, de Padua *et al.*, 2010) with greater survival capacity (Wulff, 1986).

In our study 44.87 ± 19.74 % of the seeds weighed on average 44 to 57 mg and the most frequent weight was 42 mg (Figure 3 B). Seeds with an average length of 8.0 to 8.6 mm showed variation in weight similar to those of longer length ($p=0.0823$). Seeds from 8.0

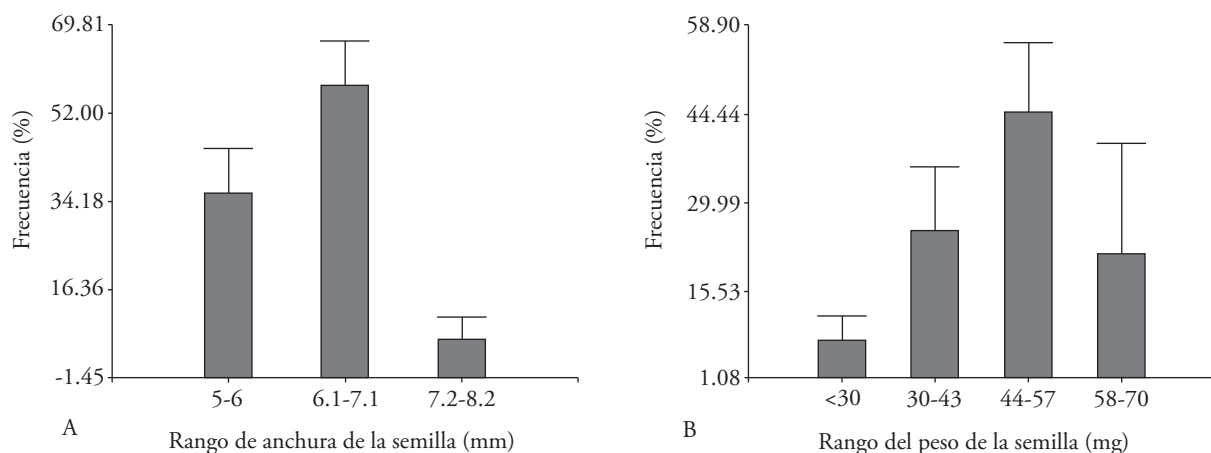


Figura 3. Distribución de frecuencia de anchura (A) y biomasa (B) de semillas de *A. teyucarensis*. San Ignacio, Misiones, Argentina. 2017.

Figure 3. Frequency distribution of width (A) and biomass (B) of seeds of *A. teyucarensis*. San Ignacio, Misiones, Argentina. 2017.

las semillas de *A. teyucuaensis* fue similar al de otras Apocynaceae, como *Aspidosperma pyriformium* Mart. (da Silva *et al.*, 2016), *Calotropis procera* AITON (de Oliveira *et al.*, 2013), *Tabernaemontana apoda* C. Wright ex Sauvalle (García, 1998) y en especies de la familia Fabaceae (Villarreal *et al.*, 2013).

El IC de 1.34 ± 0.09 indicó que la forma de las semillas es elipsoide; además son aplanadas, con tegumento relativamente duro e impermeabilidad parcial al agua. El color de las semillas puede variar del castaño oscuro a marrón claro, con un reborde de color marrón menos intenso que el centro de la semilla (Figura 5 A-B). El fruto maduro es ovoide con color verde amarronado (Figura 5 C).

El tamaño de la semilla tiene una influencia directa en el vigor y la supervivencia de las plantas. Esta relación entre tamaño de la semilla, crecimiento rápido y supervivencia son atributos que favorecen o no a la producción de plantas; por lo que, las semillas grandes y medianas son mejores para obtener plantas de alta calidad (Mtambalika *et al.*, 2014).

La cantidad de semillas por fruto varió con su tamaño; el porcentaje de semillas llenas y vanas por fruto fue 80.40 ± 2.90 % y 19.60 ± 2.90 %, estas últimas tienen un tamaño menor (Cuadro 2) y por lo general son castaño claro.

El análisis físico de frutos y semillas es una herramienta importante para detectar la variabilidad genética dentro de poblaciones de una misma especie (Pereira *et al.*, 2011; Martínez *et al.*, 2015). Además, brinda información sobre asociaciones ecológicas, el tamaño del fruto y de las semillas, las variables morfológicas son importantes en la caracterización de

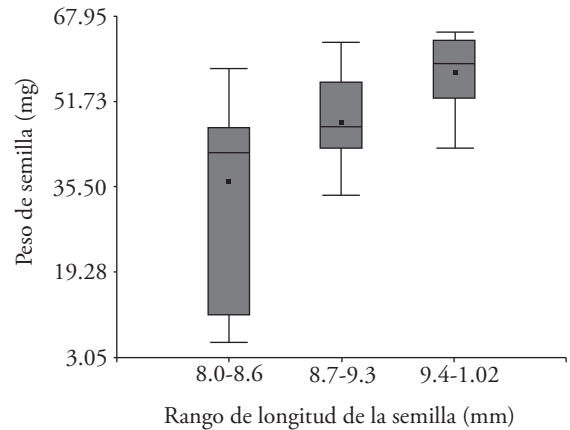


Figura 4. Peso promedio de las semillas por tamaño (longitud).
Figure 4. Average weight of the seeds by size (length).

to 8.6 mm included empty ones (between 6.0 and 58.0 mg) and those from the intervals of 8.7 to 9.3 and 9.4 to 10.2 mm had from 34 to 63 mg and 43 to 65 mg (Figure 4).

Thus, the size of the seeds of *A. teyucuaensis* was similar to that of other Apocynaceae, such as *Aspidosperma pyriformium* Mart. (da Silva *et al.*, 2016), *Calotropis procera* AITON (de Oliveira *et al.*, 2013), *Tabernaemontana apoda* C. Wright ex Sauvalle (García, 1998) and in species of the Fabaceae family (Villarreal *et al.*, 2013).

The 1.34 ± 0.09 IC indicated that the seed shape is ellipsoid, flattened, with relatively hard tegument and partial impermeability to water. The color of the



Figura 5. Semillas y fruto de *A. teyucuaensis*. Semillas sin el penacho (A). Semillas con penacho (B). Fruto maduro (C).
Figure 5. Seeds and fruit of *A. teyucuaensis*. Seeds without plume (A). Seeds with plume (B). Mature fruit (C).

Cuadro 2. Características físicas de las semillas de *A. teyucuaensis*. San Ignacio, Misiones, Argentina. 2017.**Table 2. Physical characteristics of the seeds of *A. teyucuaensis*. San Ignacio, Misiones, Argentina. 2017.**

Variable	Semillas llena [†]	Semillas vana [†]
Longitud (mm)	8.82 ± 0.47	8.27 ± 0.11
Anchura (mm)	6.61 ± 0.31	5.78 ± 0.25
Peso (mg)	49.46 ± 8.04	12.13 ± 3.25
Peso de 10 semillas (g)	0.49 ± 0.08	0.12 ± 0.03
Peso de 100 semillas (g)	4.94 ± 0.80	1.21 ± 0.32
Semillas por g	20.52 ± 3.29	87.18 ± 26.74
Semillas por kg	20 523.99 ± 3 293.32	87 183.50 ± 26 744.00

[†] Valor promedio ± error estándar ❖ Average value ± standard error.

especies, ya que estos aspectos físicos pueden separar claramente taxas (Rodríguez *et al.*, 2010; Scandaliaris *et al.*, 2013). Por lo tanto, conocer las características de las semillas es importante porque el tamaño de ellas influye en la regeneración de poblaciones (Gonçalves *et al.*, 2013), por lo cual es imprescindible conocer esta variable, sobre todo en especies en peligro de extinción como *A. teyucuaensis*.

Germinación

La germinación de *A. teyucuaensis* se inició entre los días 5 y 7 después de la siembra en los tratamientos perlita, arenisca y papel. En la perlita el proceso morfogénico se inició a los 5 d, y finalizó a los 15 d, en tanto que en la arenisca y la toalla de papel, la germinación comenzó en el día 6 y 7, respectivamente (Figura 6). En el sustrato arenisca la germinación finalizó a los 12 d y el número de semillas germinadas fue 25.55 % menor que en la perlita. El sustrato menos apropiado para la germinación de semillas de *A. teyucuaensis* fue la arena, porque el proceso morfogénico no se evidenció en este sustrato.

La capacidad germinativa de las semillas de *A. teyucuaensis*, varió considerablemente con el tipo de sustrato empleado y hubo diferencias significativas ($p=0.001$) en las variables analizadas. La perlita fue el sustrato que mostró mayor CG e IVG, pero un TMG menor, por lo que el proceso de germinación fue relativamente rápido en este sustrato. En las semillas que germinaron en papel y arenisca, se observó una CG notablemente inferior a la obtenida en perlita, mientras que las semillas colocadas en arena no germinaron (Cuadro 3). Sin embargo,

seeds can vary from dark brown to light brown, with a less intense brown on the edge (Figure 5 A-B). The ripe fruit is ovoid with brownish-green color (Figure 5 C).

The size of the seed has a direct influence on the vigor and survival of the plants. This relationship between seed size, rapid growth and survival are attributes that favor or not the production of plants; therefore, large and medium seeds are better for obtaining high quality plants (Mtambalika *et al.*, 2014).

The amount of seeds per fruit varied with size; the percentage of filled and empty seeds per fruit was 80.40±2.90 % and 19.60±2.90 %; the latter are smaller (Table 2) and are usually light brown.

The physical analysis of fruits and seeds is an important tool to detect genetic variability within populations of the same species (Pereira *et al.*, 2011, Martínez *et al.*, 2015). In addition, it provides information on ecological associations, the size of the fruit and seeds, important morphological variables in the characterization of species, since these physical aspects can clearly separate taxa (Rodríguez *et al.*, 2010, Scandaliaris *et al.*, 2013).

Therefore, knowing the characteristics of the seeds is important because the size of them influences the regeneration of populations (Gonçalves *et al.*, 2013), which is why it is essential to know this variable, especially in endangered species such as *A. teyucuaensis*.

Germination

The germination of *A. teyucuaensis* started between days 5 and 7 after sowing in the perlite, sandstone and paper treatments. In the perlite,

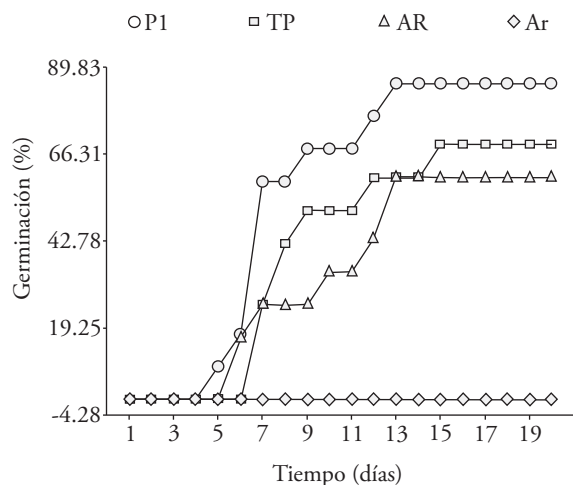


Figura 6. Germinación acumulada en PI (perlita), AR (arenisca), TP (toallas de papel) y Ar (arena).
Figure 6. Accumulated germination in PI (perlite), AR (sandstone), TP (paper towels) and Ar (sand).

el sustrato arena fue más favorable para germinar *Calotropis procera* AITON (de Oliveira *et al.*, 2013), *Adenantha pavonina* L. (Souza *et al.*, 2007) y *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook f. ex S. Moore (Pacheco *et al.*, 2008). En tanto que el papel fue el mejor sustrato para *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. (November *et al.*, 2007), *Cereus jamacaru* DC. (Guedes *et al.*, 2009), *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert (Oliveira *et al.*, 2008) y *Jatropha curcas* L. (Neves *et al.*, 2009).

the morphogenic process started at 5 d, and ended after 15 d, while in the sandstone and paper towel, germination began on day 6 and 7, respectively (Figure 6).

In the sandstone substrate germination finished after 12 d and the number of germinated seeds was 25.55 % lower than in the perlite. The least appropriate substrate for seed germination of *A. teyucarensis* was sand, because the morphogenic process was not evident in this substrate.

The germination capacity of *A. teyucarensis* seeds varied considerably with the type of substrate used and there were significant differences ($p=0.001$) in the variables analyzed. Perlite was the substrate that showed the highest CG and IVG, but a lower TMG, so the germination process was relatively fast on this substrate.

The seeds germinated in paper and sandstone showed a CG notably lower than that obtained in perlite, while seeds placed in sand did not germinate (Table 3). However, the sand substrate was more favorable for *Calotropis procera* AITON germination (de Oliveira *et al.*, 2013), *Adenantha pavonina* L. (Souza *et al.*, 2007) and *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook f. ex S. Moore (Pacheco *et al.*, 2008). While paper was the best substrate for *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. (November *et al.*, 2007), *Cereus jamacaru* DC. (Guedes *et al.*, 2009), *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert (Oliveira *et al.*, 2008) and *Jatropha curcas* L. (Neves *et al.*, 2009).

Cuadro 3. Efecto de los distintos tratamientos sobre la germinación de semillas de *A. teyucarensis*. San Ignacio, Misiones, Argentina. 2017.

Table 3. Effect of the different treatments on seed germination of *A. teyucarensis*. San Ignacio, Misiones, Argentina. 2017.

Sustrato	CG (%)	IVG (semillas d ⁻¹)	TMG (d)
Arena	0 c	0 c	0 c
Arenisca	60.00 b	2.08 b	9.56 a
Perlita	85.55 a	3.46 a	8.04 b
Toalla de Papel	68.89 b	2.41 b	9.19 a

Letras diferentes en una columna indican diferencias significativas (Tukey; $p \leq 0.05$). CG: Capacidad germinativa. IVG: Índice de velocidad de germinación. TMG: Tiempo medio de germinación ♦ Different letters in a column indicate significant differences (Tukey; $p \leq 0.05$). CG: Germinative capacity. IVG: Germination speed index. TMG: Average germination time.

En la germinación de *A. teyucuaensis*, se observó que los cotiledones son de reniformes a oblongos fotosintéticos con largos peciolos, cuya base queda sumergida en el sustrato, pero los cotiledones emergen sobre el sustrato, por lo cual la germinación es epigea (Figura 7 B-D). De acuerdo con Keller (2015), el hipocotíleo y la raíz principal (pivotante) adquieren un notable desarrollo subterráneo en su hábitat natural, pero bajo las condiciones de nuestro estudio se observó un escaso crecimiento de la radícula, principalmente en las plántulas que crecieron en perlita y papel, mientras que en arenisca, el crecimiento de la radícula fue hasta 1 cm más que en los otros tratamientos (Figura 7 A-C). La característica del desarrollo radicular de *A. teyucuaensis* también se observó en otras Apocynaceae como *Gyrostelma bornmuelleri* Schltr. Ex Malme, una forma de desarrollo que podría representar una estrategia frente a condiciones adversas del ambiente (Keller, 2015).

El conocimiento de la morfología de las plántulas y de su germinación facilita el reconocimiento en campo de la especie (Lovey *et al.*, 2010).

El porcentaje de supervivencia fue 100 % en los tratamientos perlita, papel y arenisca después de 25 d del inicio de la germinación, pero después de 50 d en papel y perlita fue cero. Las plántulas en arenisca mantuvieron la supervivencia. La mortalidad de las plántulas en perlita y papel pudo deberse a que se afectó su desarrollo radicular en esos sustratos.

Para cada especie existe un sustrato óptimo para la germinación, pero algunas especies pueden germinar correctamente en diferentes sustratos (Bewley and Black, 1994; García-Hoyos *et al.*, 2011). La germinación

In the germination of *A. teyucuaensis*, we observed that cotyledons' shapes ranged from reniform to photosynthetic oblong with long petioles, whose base is submerged in the substrate, but cotyledons emerge on the substrate, so germination is epigeous (Figure 7 B-D). According to Keller (2015), the hypocotyleo and the main root (pivotante) acquire a remarkable underground development in their natural habitat, but under the conditions of our study there was little growth of the radicle, mainly in the seedlings that grew in perlite and paper, whereas in sandstone the growth of the radicle was up to 1 cm more than in the other treatments (Figure 7 A-C). The root development of *A. teyucuaensis* was also observed in other Apocynaceae such as *Gyrostelma bornmuelleri* Schltr. Ex Malme, a form of development that could represent a strategy in the face of adverse environmental conditions (Keller, 2015).

The knowledge of the seedling morphology and its germination facilitates the identification of the species in the field (Lovey *et al.*, 2010).

The percentage of survival was 100 % in the perlite, paper and sandstone treatments 25 d after they began to germinate, but was zero after 50 d in paper and perlite. Sandstone seedlings survived. The mortality of seedlings in perlite and paper could be due to the fact that their root development was affected in these substrates.

For each species there is an optimal substrate for germination, but some species can germinate correctly in different substrates (Bewley and Black, 1994, García-Hoyos *et al.*, 2011).

Germination as a physiological potential of the seeds regulates the time in which it occurs, when the

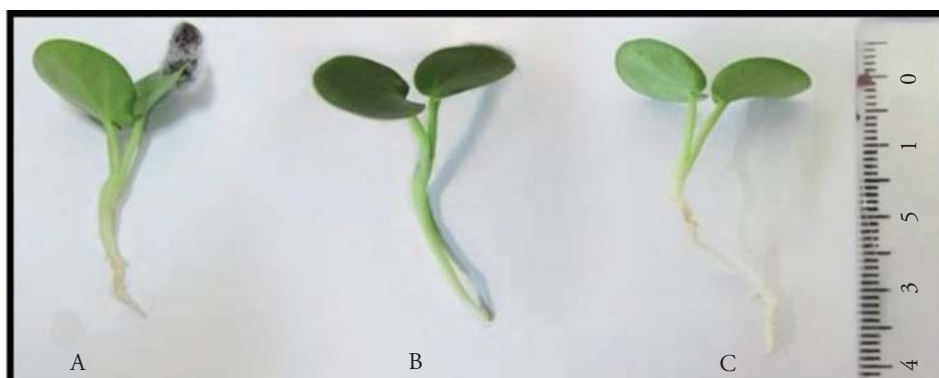


Figura 7. Plántulas de *A. teyucuaensis* 25 días después de la germinación obtenidas en perlita (A), papel (B) y arenisca (C).
Figure 7. Seedlings of *A. teyucuaensis* 25 days after germination obtained in perlite (A), paper (B) and sandstone (C).

como potencial fisiológico de las semillas regula el tiempo para germinación, cuando las condiciones ambientales durante la germinación son similares a las de desarrollo de la planta joven y su respuesta a estas condiciones permitirá que la planta adulta se desarrolló bien en un área determinada (Donohue *et al.*, 2005).

Los resultados de nuestro estudio aportaron información de la morfología de frutos, semillas, germinación y plántulas de *A. teyucuaensis*, los cuales pueden facilitar la identificación y conservación de la especie (da Costas *et al.*, 2014; Sánchez *et al.*, 2015).

CONCLUSIONES

En *Austrochthamalia teyucuaensis* la cantidad de semillas aumentó con la longitud del fruto y las dimensiones de las semillas fueron independientes del tamaño de fruto. La perlita fue el sustrato que generó mayor porcentaje de germinación; sin embargo, las plantas crecieron y sobrevivieron únicamente en la arenisca.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Facultad de Ciencias Forestales por su colaboración para la ejecución de esta investigación y al CONICET y CEDIT por la beca otorgada. Y un agradecimiento especial al Dr. Keller Héctor, por proporcionar el material vegetal.

LITERATURA CITADA

- Aguiar, I. B. D. 1995. Conservação de sementes. *In*: Silva, A., Piña F. C. M. Rodrigues, e M. B. Figliolia (eds). Manual Técnico de Sementes Florestais. Instituto Florestal, São Paulo. pp: 33-44.
- Amorim, I. L., A. C. Dative, e M. M. F. Chaves. 1997. Morfologia do fruto e da semente, e germinação da semente de *Trema micrantha* (L.) Blum. *Cernea* 4: 129-142.
- Aráoz, S., O. del Longo, y O. Karlin. 2004. Germinación de semillas de *Zizyphus mistol* Grisebach III. Correlaciones paramétricas del tamaño y peso de drupas, endocarpos y semillas con la germinación y el vigor. *Multequina* 13: 51-56.
- Ayala C., G., T. Terrazas, L. López M., y C. Trejo. 2004. Variación en el tamaño y peso de la semilla y su relación con la germinación en una población de *Stenocereus beneckeii*. *Interciencia* 29: 692-697.
- Balocchi, O., I. López, y J. Lukaschewsky. 1998. Características físicas y germinativas de la semilla de especies nativas y naturalizadas del dominio húmedo de Chile. *Agro. Sur*. 27: 1-13.
- Bertolini, M. P. 2005. Plan de Manejo del Parque Provincial Teyú Cuaré. 105 p.

environmental conditions of this process are similar to those of the young plant development, and its response to these conditions will allow the adult plant to develop well in a certain area (Donohue *et al.*, 2005).

The results of our study provided information on the morphology of fruits, seeds, germination and seedlings of *A. teyucuaensis*, which can facilitate the identification and conservation of the species (da Costas *et al.*, 2014, Sánchez *et al.*, 2015).

CONCLUSIONS

In *Austrochthamalia teyucuaensis* the amount of seeds increased with the length of the fruit, and the dimensions of the seeds were not affected by the size of the fruit. The perlite substrate generated the highest germination percentage; however, the plants grew and survived only in the sandstone.

—End of the English version—



- Bewley, J. D., and M. Black. 1994. Seeds. *In*: Seeds. Springer Us. New York. pp: 1-33.
- Cabrera, A. L. 1976. Regiones fitogeográficas de la República Argentina. *In*: Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. ACME. Buenos Aires. 85 p.
- Casas, A., J. Caballero, A. Valiente B., J. A. Soriano, and P. Dávila. 1999. Morphological variation and the process of domestication of *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) in Central México. *Am. J. Bot.* 86. 534-542.
- Cerdá, A., and P. García F. 2002. The influence of seed size and shape on their removal by water erosion. *Catena* 4: 293-301.
- Chao, C. C. T. 2005. Pollination study of mandarins and the effect on seediness and fruit size: implications for seedless mandarin production. *HortScience* 40: 362-365.
- Cosmo, N. L., A. M. Gogosz, A. C. Nogueira, C. Bona, e Y. S. Kuniyoshi. 2009. Morfologia do fruto, da semente e morfo-anatomia da plântula de *Vitex megapota mica* (Spreng.) Moldenke (Lamiaceae). *Acta Bot. Bras.* 2: 389-397.
- da Costa, L. G., A. G. da Silva, e D. R. Gomes. 2014. Morfologia de frutos, sementes e plântulas, e anatomia das sementes de sombreiro (*Clitoria fairchildiana*). *Amaz. J. Agric. Environ. Sci.* 4: 414-421.
- da Silva, D. D., J. P. dos Santos, M. G. Caldas P., e M. S. de Caldas P. 2016. Morfometria de frutos e sementes de (*Aspidosperma pyrifolium* Mart.). Congreso Internacional da Diversidade do Semiárido. CONIDIS. www.conidis.com.br (Consulta: junio 2017).

- de Oliveira B., S. R. S., S. B. Torres, F. N. de Oliveira, E. P. de Paiva, e D. A. V. Bento. 2013. Biometria de frutos e sementes e germinação de *Calotropis procera* Aiton (Apocynaceae). *Biosci. J.* 29: 1194-1205.
- de Padua, G. P., R. K. Zito, N. E. Arantes, e F. Neto. 2010. Influência do tamanho da semente na qualidade fisiológica e na produtividade da cultura da soja. *Rev. Bras. Sem.* 3: 9-16.
- Di Bitetti, M. S., G. Placci, and L. A. Dietz. 2003. A biodiversity vision for the Upper Paraná Atlantic Forest ecoregion: Designing a Biodiversity Conservation Landscape and Setting Priorities for Conservation Action. *World Wildlife Fund. Washington, D.C.* 156 p.
- Di Rienzo, J. A., F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. González, M. Tablada, y C. W. Robledo. 2016. InfoStat, versión 2016, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Dixon, K. W., S., Roche, and J. S. Pate. 1995. The promotive effect of smoke derived from burnt native vegetation on seed germination of Western Australian plants. *Oecologia* 2: 185-192.
- Donohue, K., L. Dorn, C. Griffith, E. Kim, A. Aguilera, C. R. Polisetty, and J. Schmitt. 2005. The evolutionary ecology of seed germination of *Arabidopsis thaliana*: variable natural selection on germination timing. *Evolution* 59: 758-770.
- Forget, P. M., À. J. Dennis, S. J. Mazer, P. A. Jansen, S. Kitamura, J. E. Lambert, and D.A. Westcott. 2007. Seed allometry and disperser assemblages in tropical rainforest: A comparison of four floras on different continents. *In: Dennis, A. J., E. W. Schupp, R. Green, and D. Westcott (eds). Seed dispersal: theory and its application in a changing world.* CAB International Publishing, Wallingford, UK. pp: 5-36.
- García H., A., J. Sánchez R., L. A. García H., y F. León G., 2011. Reproducción sexual e influencia de sustratos en el desarrollo de *Malpighia glabra* L. (Malpighiaceae). *Polibotánica* 32: 119-133.
- García, P. I. L. 1998. Propagación sexual y cultivo de una especie amenazada; *Tabernaemontana apoda* C. Wright ex Sauvalle (Apocynaceae): evaluación de la semilla como posible factor de riesgo. *Rev. Jar. Bot. Nac.* 19: 89-95.
- Gonçalves, L. G. V., F. R. Andrade, B. H. Marimon Junior R., T. R. Schossler, E. Lenza, e B. S. Marimon. 2013. Biometria de frutos e sementes de mangaba (*Hancorniaspeciosa* Gomes) em vegetação natural na região leste de Mato Grosso, Brasil. *Rev. Ciên. Agr.* 36: 31-40.
- Guedes, R. S., E. U. Alves, E. P. Gonçalves, R. L. A. Bruno, J. M. Braga Júnior, e M. S. Medeiros. 2009. Germinação de sementes de *Cereus jamacaru* DC. em diferentes sustratos e temperaturas. *Acta Sci. Biol. Sci.* 31: 159-164.
- Huerta P., R., y D. A. Rodríguez T. 2011. Efecto del tamaño de semilla y la temperatura en la germinación *Quercus rugosa* Née. *Rev. Chapingo Ser. Cienc. For. Amb.* 2: 179-187.
- IUCN (International Union for Conservation of Nature). 2001. Categorías y Criterios de la Lista Roja de la UICN. Versión 3.1. Comisión de la Supervivencia de Especies de la UICN. pp: 10-11.
- Keller, H. A. 2015. *Austrochthamalia teyucuaensis* (Apocynaceae: Asclepiadoideae), una nueva especie endémica de Misiones, Argentina. *Lilloa* 1: 1-6.
- Lovey, R. J., P. Perissé, C. Vieyra, y J. C. Coraglio. 2010. Caracterización de semilla, germinación y plántula de *Cologania broussonetii* (Balb.) DC. *Phyton* 79: 5-10.
- Mack, A. L. 1993. The sizes of vertebrate-dispersed fruits: a Neotropical-Paleotropical comparison. *Am. Nat.* 142: 840-856.
- Maguire, J. D. 1962. Speed of germination-and in selection and evaluation for seeding emergence and vigor. *Crop Sci.* 2: 176-177.
- Martínez, A., S. Pérez, V. Lema, y F. López A. 2015. Modificación de caracteres ligados a la domesticación en *Cucurbita maxima*. Utilización de la morfometría como herramienta para su identificación. *Acta Bot. Malac.* 40: 95-106.
- Matheus, M. T., e J. C. Lopes. 2007. Morfologia de frutos, sementes e plântulas e germinação de sementes de *Erythrina variegata* L. *Rev. Bras. Sem.* 3: 8-17.
- Mazer, S. J., and N. T. Wheelwright. 1993. Fruit size and shape: allometry at different taxonomic levels in bird-dispersed plants. *Evol. Ecol.* 7: 556-575.
- Morales V., M. G., C. A. Ramírez N., P. Delgado V., y J. López U. 2010. Indicadores reproductivos de *Pinus leiophylla* Schltdl et. Chan en la cuenca del río Angulo, Michocán. *Rev. Mex. Cien. For.* 1: 31-38.
- Mtambalika, K., C. Munthali, D. Gondwe, and E. Missanjo. 2014. Effect of seed size of *Azizelia quanzensis* on germination and seedling growth. *Int. J. For. Res.* 2014: 1-4.
- Myers, M., R. A. Mittermeier, C. G. Mittermeier, G. A.B. Da Fonseca, and J. Kent. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858.
- Neves, J. M. G., H. P. Silva, D. S. Brandao Junior, E. R. Martins, e U. R. Nunes. 2009. Padronização do teste de germinação para sementes de pinhão-manso. *Rev. Caatinga.* 4: 76-80.
- Novembre, A. D. L. C., T. C. Faria, D. H. V. Pinto, e H. M. C. P. Chamma. 2007. Teste de germinação de sementes de sansão-do-campo (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. - Fabaceae - Mimosoideae). *Rev. Bras. Sem.* 29: 42-45.
- Oliveira, E. C. 1993. Morfologia de plântulas florestais. *In: Aguiar, I. B., F. C. M. Piña Rodrigues, e M. B. Figliolia (eds). Sementes Florestais Tropicais.* Abrates. Brasília. pp: 175-214.
- Oliveira, L. M., A. C. Davide, e M. L. M. Carvalho. 2008. Teste de germinação de sementes de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert - Fabaceae. *Floresta* 38: 545-551.
- Pacheco, M. V., V. P. Matos, A. L. P. Feliciano, e R. L. C. Ferreira. 2008. Germinação de sementes e crescimento inicial de plântulas de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. y Hook F. ex S. Moore. *Ciênc. Florest.* 18: 143-150.
- Pece, M., M., Juárez de G., M. Acosta, C. G. de Benítez, S. Saavedra, y C. Bruno. 2008. Relación entre la longitud de la vaina y el número de semillas por vaina en Algarrobo blanco. *Quebracho* 15: 59-63.
- Pereira, S. R., G. R. Giraldeili, V. A. Laura, e A. L. T. Souza. 2011. Tamanho de frutos e de sementes e sua influência na germinação de jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* var. *stigonocarpa* Mart. ex Hayne, Leguminosae - Caesalpinioideae). *Rev. Bras. Sem.* 33: 141-148.
- Rendón, J. A. S., B. M. García, Y. R. Cuesta, y Y. T. Areas. 2002. Correlación entre el tamaño de la semilla, la dormancia, la germinación y el vigor de las plántulas de *Calophyllum pinetorum*. *Rev. Jar. Bot. Nac.* 23: 75-84.
- Rocas, A. N., E. O. Ramírez G., y A. Aparicio R. 2007. Correlación entre características de frutos de *Swietenia macrophylla* King con su contenido de semillas desarrolladas. *Foresta Veracruzana* 9: 49-53.

- Rodríguez, Á., M. Corazon G., D. Cachique, K. Mejía, D. Del Castillo, J. F. Renno, y C. García D. 2010. Diferenciación morfológica y por ISSR (Inter simple sequence repeats) de especies del género *Plukenetia* (Euphorbiaceae) de la Amazonía peruana: propuesta de una nueva especie. *Rev. Perú. Biol.* 17: 325-330.
- Sánchez S., J., J. Flores, G. Muro P., S. Arias M., y E. Jurado. 2015. Morfometría de semillas en la cactácea amenazada de extinción *Astrophytum myriostigma* Lemaire. *Polibotánica* 39: 119-131.
- Sánchez, A. S., H. J. M. Vera, J. P. Flores, y J. L. Upton. 2016. Relación dimensión-germinación de semilla de caoba (*Swietenia macrophylla* King) en la UMAF 2702ST Sierra de Tenosique. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 14: 2783-2791.
- Scandaliaris, M., M. L. Molinelli, R. J. Lovey, P. Perissé, V. M. Perez, y C. V. Arias. 2013. Caracterización morfoanatómica de fruto, semilla y plántula de *Desmodium incanum* DC. (Fabaceae: Faboideae: Desmodieae). *Arnaldoa* 20: 45-58.
- Silva, K. B., E. U. Alves, A. N. P. de Oliveira, P. A. F. Rodrigues, N. A. de Sousa, e V. A. de Aguiar. 2014. Variabilidade da germinação e caracteres de frutos e sementes entre matrizes de *Sideroxylon obtusifolium* (Roem. y Schult.) TD Penn. *Rev. Eletrô. Biol.* 7: 281-300.
- Souto, P. C., S. C. V. Sales, J. S. Souto, R. V. Santos, e A. A. Sousa. 2008. Biometria de Frutos e Número de Sementes de *Calotropis procera* (Ait.) R. Br no semi-árido da Paraíba. *Rev. Verde.* 1: 108-113.
- Souza, E. B., M. V. Pacheco, V. P. Matos, e R. L. C. Ferreira. 2007. Germinação de sementes de *Adenantha pavonina* L. em função de diferentes temperaturas e substratos. *Rev. Árvore.* 31: 437-443.
- Tálamo, A., S. Cardozo, y F. Mohr. 2012. Producción de semillas de quebracho blanco (*Aspidosperma quebracho-blanco*) en un sector del Chaco semiárido y su relación con el tamaño del fruto. *Bosque* 1: 87-91.
- Teruggi, M. E. 1970. Bosquejo geológico del Paraguay y la Provincia de Corrientes. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 11: 1-15.
- Vázquez, Y., C., and M. R. Aréchiga. 1996. *Ex situ* conservation of tropical rain forest seed: problems and perspectives. *Interciência* 5: 293-298.
- Velazco, S. J. E., F. Galvão, H. A., Keller, and N. A. Bedrij. 2018. Cerrados in Argentina? Structure, diversity and biogeography of the woody component of a savanna in the Misiones Province. *Rodriguésia* 2: 335-349.
- Villarreal G., J. A., A. Rocha E., M. L. Cárdenas Á., S. Moreno L., M. González Á., y V. Vargas L. 2013. Caracterización morfométrica, viabilidad y germinación de semillas de mezquite y huizache en el noreste de México. *Phyton* 82: 169-174.
- Wulff, R. D. 1986. Seed size variation in *Desmodium paniculatum*: I. Factors affecting seed size. *J. Ecol.* 74: 87-97.
- Zalazar, M., G. Funes, y M. P. Venier. 2009. Factores que afectan la germinación de *Justicia squarrosa* Griseb, forrajera nativa de la región chaqueña de la Argentina. *Agriscientia* 1: 1-6.