

## Germinación de semillas de especies nativas colonizadoras de taludes viales del noroeste patagónico

SOFÍA L. GONZALEZ; GISELLE A. CHICHIZOLA<sup>✉</sup> & ADRIANA E. ROVERE

INIBIOMA (CONICET, Universidad Nacional del Comahue). Bariloche, Río Negro, Argentina.

**RESUMEN.** El conocimiento de la ecofisiología de la germinación de semillas de especies colonizadoras es útil para su propagación y uso en revegetación. El objetivo fue evaluar los requerimientos de germinación y el tipo de dormición de semillas de especies nativas de estepa y de bosque colonizadoras de taludes en el noroeste patagónico. La hipótesis postulada fue que las semillas presentan dormición asociada a su ambiente de origen: dormición fisiológica o morfológica en ambientes húmedos y dormición física en ambientes secos. Se aplicaron dos tratamientos pre-germinativos luego de un almacenamiento por seis meses en frío seco: estratificación húmeda-fría (5 °C, 45 días) o escarificación mecánica con bisturí, más un grupo control. Las semillas se colocaron a germinar en condiciones de temperatura y fotoperíodo controlados (10/20 °C, 12/12 h). Se calculó el porcentaje, el inicio y el tiempo medio de germinación. Se compararon los dos tratamientos y el control de cada especie y se realizó un análisis de componentes principales. Post-ensayo, se calculó el porcentaje de semillas viables no germinadas, vanas y con presencia de hongos o daños por insectos. La dormición de las semillas no estuvo asociada a su ambiente de origen; otros factores (e.g., estacionalidad climática, similitud filogenética), sin embargo, podrían relacionarse con mecanismos que regulan la dormición. Las semillas de *Acaena ovalifolia* y *Baccharis linearis* no presentaron dormición, obteniendo porcentajes de germinación >80% en el control. Las semillas de *Anemone multifida* presentaron dormición física, incrementando significativamente la germinación con el tratamiento de escarificación mecánica. Ambos pre-tratamientos adelantaron y aceleraron la germinación en *Acaena magellanica* y *A. splendens*. No se pudo determinar el tipo de dormición de las otras especies. Este estudio aporta información valiosa sobre las condiciones ecofisiológicas de germinación de especies nativas para incorporar en protocolos de propagación ex situ e in situ para restaurar áreas degradadas.

[Palabras clave: áreas degradadas, dormición, tratamientos pre-germinativos, propagación, restauración]

**ABSTRACT.** Seed germination of native species that colonize roadside slopes in northwestern Patagonia. The knowledge of the ecophysiology of seed germination in colonizing species is useful for their propagation and use in revegetation. The aim was to assess the germination requirements and dormancy type of native species from steppe and forest ecosystems colonizing slopes in the Northwest Patagonia. The postulated hypothesis was that seeds exhibit dormancy associated with their native environment: physiological or morphological dormancy in humid environments and physical dormancy in dry environments. Two pre-germination treatments were applied after six months of dry cold storage: moist-cold stratification (5 °C, 45 days) or mechanical scarification with a scalpel, along with a control group. The seeds were germinated under controlled temperature and photoperiod conditions (10/20 °C, 12/12 h). Percentage, time, and mean germination were calculated. Both treatments and the control for each species were compared, and a principal component analysis was conducted. Post-assessment, the percentage of viable seeds not germinated, empty seeds, and those with fungal presence or insect damage were calculated. Seed dormancy was not associated with their native environment; however, other factors (e.g., climatic seasonality, phylogenetic similarity) might be related to dormancy regulation mechanisms. Seeds of *Acaena ovalifolia* and *Baccharis linearis* showed no dormancy, achieving germination rates >80% in the control. *Anemone multifida* seeds exhibited physical dormancy, with a significant increase in germination with mechanical scarification treatment. Both pre-treatments advanced and accelerated germination in *Acaena magellanica* and *A. splendens*. The dormancy type of other species could not be determined. This study provides valuable information on the ecophysiological germination conditions of native species to be incorporated into ex situ and in situ propagation protocols for restoring degraded areas.

[Keywords: degraded areas, dormancy, pre-germinative treatments, propagation, restoration]

## INTRODUCCIÓN

La construcción de rutas y caminos genera impactos de magnitud considerable en las comunidades naturales debido sobre todo a la remoción del suelo y a la eliminación de la cobertura vegetal, exponiendo las áreas afectadas a mayor degradación por erosión eólica e hídrica (Coffin 2007; Mola et al. 2011; Chichizola et al. 2019a). El movimiento de suelo produce taludes viales, que son áreas degradadas con mayor pendiente y características edáficas diferentes a las de áreas aledañas no disturbadas (Chichizola 2022). La recuperación de la vegetación de los taludes solo es posible bajo una serie de condiciones y pasos: el retiro del agente de disturbio, la recuperación de las propiedades fisicoquímicas y biológicas del suelo, la presencia de una fuente de propágulos cercana con la posibilidad de dispersión y un banco de semillas y de plántulas con la capacidad de establecerse y sobrevivir (Harper 1977; Lamb and Gilmour 2003).

La revegetación de áreas degradadas se puede realizar trasladando plantas desde el ecosistema de referencia, aunque es una práctica que puede disturbar el ambiente natural y presentar un bajo porcentaje de éxito (Nittmann 2010). Otras técnicas de revegetación incluyen la siembra directa, el traslado de banco de semillas o el trasplante de plantas cultivadas en vivero, técnicas para las que es importante conocer la biología reproductiva y los requerimientos eco-fisiológicos de la germinación de semillas de las especies involucradas, incluyendo las condiciones óptimas y tiempo de almacenamiento de las semillas, el tipo de dormición que tienen, los métodos de ruptura de la misma y la conveniencia o necesidad de aplicar tratamientos pre-germinativos (Hartmann and Kester 1980; Rovere 2006; Bainbridge 2007; Cross et al. 2020). Un 50-90% de las especies de plantas silvestres en todo el mundo producen semillas que están inactivas al madurar (Kildisheva et al. 2020), lo que resulta una adaptación beneficiosa para las plantas en sistemas naturales en buen estado, ya que evita su germinación en condiciones desfavorables para el establecimiento y supervivencia de las plántulas (Baskin and Baskin 2014). En escenarios de restauración, en cambio, estos mecanismos pueden resultar no convenientes para producir plantas ex situ o bien pueden limitar el reclutamiento de plantas al sembrar, por lo que conocer el tipo de dormición y los

requerimientos germinativos de las semillas de especies nativas resulta relevante (Beider 2012; Kildisheva et al. 2020). Lamentablemente, la información de estos requerimientos suele ser nula o insuficiente para las especies nativas de muchas regiones del mundo, como ocurre con muchas plantas nativas de la Patagonia argentina (Masini et al. 2012, 2014).

Según Baskin y Baskin (2014), se considera que las semillas no presentan mecanismos de dormición cuando su porcentaje de germinación (sin tratar) es mayor al 80% y este valor no aumenta con la aplicación de tratamientos pre-germinativos, y que las semillas están dormidas cuando la germinación es baja o nula dentro de un período de 30 días en condiciones adecuadas de humedad y temperatura. El tipo de dormición depende de una combinación de características con una marcada señal filogenética a nivel de familia, género o especie, como el grado de adaptación a la estacionalidad y a las condiciones ambientales del entorno (i.e., humedad, luz, temperatura) (Masini et al. 2014; Kildisheva et al. 2020). En los ecosistemas semiáridos y áridos como desiertos y estepas prevalece la dormición física debida a la presencia de cubiertas duras e impermeables en las semillas que evitan la deshidratación pero también dificultan la posterior hidratación necesaria para la germinación (Harper 1977; Fenner and Thompson 2005). Este tipo de dormición se puede romper por medio de una escarificación mecánica o química que consiste en romper, rayar o desgastar las cubiertas duras e impermeables de las semillas para hacerlas permeables al agua y a los gases, por ejemplo, exponiéndolas al calor o a la abrasión con ácido, con papel de lija o con arena (Hartmann and Kester 1980; Figueroa and Jaksic 2004). Por otro lado, las semillas de especies de climas templados estacionales a menudo presentan dormición fisiológica para retrasar la germinación hasta la primavera, y es interrumpida por la acción de bajas temperaturas y humedad durante un período de tiempo que, dependiendo de la especie, suele variar entre 30 y 180 días (Probert 2000; Baskin and Baskin 2003; Figueroa and Jaksic 2004). El objetivo de la estratificación húmeda-fría es imitar las condiciones invernales exponiendo las semillas a bajas temperaturas (heladera), en arena húmeda o entre capas de papel de filtro humedecido, durante un período de tiempo variable (Hartmann and Kester 1980). Varias especies arbóreas, arbustivas y herbáceas de

bosques caducifolios templados, especies leñosas de matorral y especies del bosque andino-patagónico presentan semillas con dormición fisiológica (Rovere 2006; Arana et al. 2016).

Nuestro objetivo fue caracterizar los requerimientos de germinación y el tipo de dormición de semillas de especies nativas que colonizan frecuentemente los taludes viales en el noroeste de la Patagonia (Argentina) y están presentes en sus alrededores, para las cuales hay escasa o nula información disponible que resulte apta para desarrollar planes de revegetación. Dado que en esta región ocurren fuertes gradientes ambientales, con bosques templados muy húmedos (al oeste) y estepas semidesérticas (al este) separados por unas pocas decenas de kilómetros (Ezcurra and Brion 2005), en este trabajo haremos esa caracterización aplicando diferentes tratamientos pre-germinativos. Nuestra hipótesis es que las semillas de las especies nativas presentan mecanismos de dormición que evitan su germinación inmediata (luego de la dispersión primaria) mediante mecanismos asociados a sus ambientes de origen: dormición fisiológica o morfológica en las plantas que habitan ambientes húmedos y dormición física en las que provienen de ambientes secos. Por lo tanto, esperamos que las semillas de ambientes húmedos rompan la dormición (i.e., aumenten y aceleren su germinación) con la aplicación de una estratificación húmeda-fría mientras que las semillas de ambientes secos lo hagan con la aplicación de escarificación mecánica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio

El área de estudio se encuentra ubicada al noroeste de la Patagonia (Río Negro, Argentina). Comprende los taludes de rutas y caminos y áreas aledañas a los mismos (ecosistemas de referencia) ubicados en cercanías de los ejidos municipales de las ciudades de San Carlos de Bariloche y Dina Huapi, como también dentro del Parque Nacional Nahuel Huapi. El área de estudio se encuentra en un fuerte gradiente de precipitación oeste-este (2000 mm/año a 560 mm/año) debido al efecto de la cordillera de los Andes como barrera para los vientos húmedos del Pacífico (Pereyra 2007). Aquí confluyen las provincias fitogeográficas subantártica (bosques húmedos y fríos) y

patagónica (estepa herbácea-arbustiva), diferenciándose tres comunidades vegetales: estepa, bosque húmedo perennifolio dominado por *Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Oerst. y bosque húmedo caducifolio de *N. pumilio* (Poepp. and Endl.) (Cabrera 1971; Ezcurra and Brion 2005; Amoroso et al. 2021).

### Especies estudiadas

La selección de especies candidatas para simultáneamente poner a prueba la hipótesis y generar información útil para las técnicas de revegetación se basó en dos criterios: a) que las especies estuvieran presentes tanto en los taludes viales como en áreas cercanas consideradas ecosistemas de referencia, y b) que contaran con escasa o nula información sobre sus requerimientos de germinación, aspecto relevante para su propagación ex situ. Las especies debían pertenecer a la flora local de cada ambiente y estar presentes en los taludes, ya que al colonizarlos espontáneamente muestran su capacidad para establecerse superando las limitaciones ambientales de estas áreas disturbadas, como la aridez, las heladas y los vientos fuertes (Bochet et al. 2010). Además, debían estar presentes en el ecosistema de referencia, dado que el objetivo de restaurar o rehabilitar un sitio degradado es que se integre a su ecosistema natural y pueda, con el tiempo, recuperar al menos parte de su composición y estructura (Clewell et al. 2004).

Se cosecharon propágulos maduros (de aquí en adelante 'semillas') de cuatro especies nativas de cada ambiente antes de su dispersión primaria durante las temporadas de febrero-marzo 2016 y enero-marzo 2017. Se formó un único lote por especie con 10-20 semillas de cada uno de 30 individuos. En algunos casos se cosecharon los frutos enteros, separando luego las semillas propiamente dichas en laboratorio. En áreas de bosque de *N. dombeyi* y *N. pumilio* se cosecharon semillas de *Haplopappus glutinosus* Cass. (Asteraceae) en marzo 2016 y de *Anemone multifida* Poir. (Ranunculaceae), *A. ovalifolia* Ruiz and Pav y *A. pinnatifida* Ruiz and Pav. (Rosaceae) en marzo 2017. En áreas de estepa, en febrero 2016 se cosecharon semillas de *Baccharis linearis* (Ruiz and Pav.) Pers. ssp. *linearis* (Asteraceae) y de *Grindelia anethifolia* (Phil.) A. Bartoli and Tortosa var. *anethifolia* (Asteraceae), y en enero 2017 de *Acaena magellanica* (Lam.) Vahl, y *A. splendens* Hook. and Arn. (Rosaceae).

### Ensayos de germinación

En el laboratorio se acondicionaron las semillas quitándoles residuos vegetales y polvo, y se descartaron aquellas vanas y con presencia visible de ataque de insectos u hongos. Luego, se secaron a temperatura ambiente y se almacenaron en bolsas de papel en heladera a 5 °C, secas y en oscuridad, durante 6 meses. Las condiciones de almacenamiento con bajas temperaturas y en seco tienden a enlentecer los cambios fisiológicos, evitando la pérdida de viabilidad y que las semillas entren en una dormición secundaria (Baskin and Baskin 2020). Dado que para las especies nativas no se conocen las condiciones de almacenamiento óptimas, es preferible almacenar las semillas en condiciones de frío seco (4-5 °C) que en condiciones de ambiente (De Vitis et al. 2020).

Los ensayos de germinación se realizaron en el mismo año de la cosecha. Previo a los ensayos pre-germinativos, las semillas fueron desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio (2%) durante 2 minutos, enjuagadas con agua durante otros 2 minutos y asignadas al azar a uno de los dos tratamientos pre-germinativos: 1) de estratificación húmeda-fría, y 2) de escarificación mecánica, o al grupo control (sin tratamiento pre-germinativo). Se utilizaron 10 réplicas de 30 semillas cada una por tratamiento y por especie. En el tratamiento de estratificación húmeda-fría, las semillas se ubicaron entre capas de algodón humedecidas con una solución fungicida de oxiclورو de cobre, se introdujeron en bolsas de plástico cerradas herméticamente y se colocaron en heladera a 5 °C en oscuridad durante 45 días. Durante este tratamiento pre-germinativo se observó la germinación de semillas de las especies *Baccharis linearis* (14.5%, estepa) y *Haplopappus glutinosus* (42.1%, bosque). Estas semillas fueron consideradas para el cálculo de porcentaje de germinación, pero no para los cálculos de inicio de germinación y tiempo medio de germinación bajo este tratamiento. En el tratamiento de escarificación mecánica se realizó un corte con bisturí sobre el tegumento de las semillas sin dañar el endospermo, inmediatamente antes del inicio del ensayo de germinación.

Para los ensayos simultáneos de germinación de los tres grupos, las semillas se colocaron en cajas de Petri sobre papel de filtro y algodón estéril, ambos humedecidos con agua estéril, y estas en una cámara de

germinación bajo condiciones controladas de luz y temperatura, con un fotoperíodo de 12/12 h de luz/oscuridad a 20/10 °C. Cada 4 días se monitoreó la germinación y se realizó un riego con una solución de agua estéril y fungicida de oxiclورو de cobre. Las semillas se consideraron germinadas cuando la radícula emergía por lo menos 2 mm por fuera del tegumento. Al finalizar los ensayos de germinación, se realizaron pruebas de viabilidad de las semillas no germinadas mediante la prueba de corte: se realizó un corte transversal a cada semilla con un bisturí y se observó bajo lupa estereoscópica el estado de los tejidos internos para clasificarla como viable (aspecto turgente) o no viable (vana o dañada por insectos) (Gosling 2003; Masini et al. 2014).

### Análisis de datos

Se compararon los días transcurridos desde el inicio del ensayo hasta que germinó la primera semilla (inicio de germinación), el porcentaje de germinación final y el tiempo medio de germinación entre los tres grupos de semillas de cada especie (dos tratamientos y el control). El porcentaje de germinación final para cada réplica se calculó como:

$$G = g / (g + vs + f) \quad \text{Ecuación 1}$$

donde  $g$  es el número de semillas germinadas,  $vs$  es el número de semillas no germinadas, pero viables según la prueba de corte, y  $f$  es el número de semillas no germinadas que presentaron hongos (Gosling 2003). El estimador considera a las semillas dañadas por hongos como viables dado que no se sabe si se infectaron durante los tratamientos pre-germinativos o en el ensayo de germinación, pero excluye a las semillas no germinadas que se consideraron no viables (vanas o dañadas por insectos) según la prueba de corte.

Se calculó el tiempo medio de germinación (TMG) para cada réplica utilizando la ecuación propuesta por Khajeh-Hosseini et al. (2003):

$$(2) \text{TMG} = \frac{\sum_{i=1}^n f_i x_i}{\sum_{i=1}^n x_i} \quad \text{Ecuación 2}$$

donde  $f_i$  es el número de días transcurridos desde que se inició el ensayo de germinación y  $x_i$  es el número de semillas que germinaron dentro de intervalos de tiempo consecutivos (4 días),  $i$  es el intervalo de tiempo y  $n$  es el número de días que duró el ensayo.

Debido a que la distribución de las variables inicio, porcentaje y tiempo medio de germinación no cumplieron con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas necesarios para realizar pruebas paramétricas, se compararon las medianas de los grupos con las pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney. En los casos en que se encontraron diferencias significativas se aplicaron comparaciones múltiples de a pares de los rangos promedio (Siegel and Castellan 1995). Se utilizó el software SPSS versión 23.0 para Windows (IBM 2015).

Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) para agrupar las especies según el tipo de dormición, teniendo en cuenta el inicio, el porcentaje y el tiempo medio de germinación en los tratamientos y el control. En este análisis se incorporaron datos ya disponibles de otras tres especies nativas, obtenidos bajo el mismo protocolo: *Eryngium paniculatum* Cav. and Dombey ex F. Delaroche (Apiaceae), *Oenothera odorata* Jacq. (Onagraceae), ambas de estepa, y *Phacelia secunda* J.F. Gmel. var. *secunda* (Hydrophyllaceae) del bosque de *N. pumilio* (Chichizola et al. 2018; 2019b). Se realizó una matriz de correlación utilizando la función PCA del paquete FactorMineR (Lê et al. 2018), y la representación gráfica con la función fviz\_pca del paquete factoextra (Kassambara and Mundt 2022), dentro del entorno R (versión 4.0.4; R Core Team 2022). Dado que las variables tienen unidades de medida diferentes (proporción y días), el

ACP se realizó sobre la matriz de correlación (i.e., con variables centradas y estandarizadas) (Legendre and Legendre 2012). Dado que para *H. glutinosus* y *B. linearis* no se pudieron estimar las variables respuestas tiempo medio de germinación e inicio de germinación para el tratamiento de estratificación húmeda-fría, se consideraron a estos datos como valores faltantes o missing values (NA) en la matriz de datos del ACP. El paquete utilizado realiza el análisis aun teniendo un mínimo de datos faltantes (Lê et al. 2018; Kassambara and Mundt 2022). Para interpretar los resultados se consideraron las componentes principales con autovalores ( $\lambda$ ) $\geq 1$  (Legendre and Legendre 2012), y para interpretar cada componente principal se consideraron las variables que presentaron una correlación simple con el componente  $\geq 0.5$ .

## RESULTADOS

Los porcentajes de germinación de las semillas provenientes de áreas de estepa fueron  $\geq 60\%$  para todas las especies y tratamientos, con excepción de *Grindelia anethifolia*, cuyos valores fueron  $\leq 40\%$  (Tabla 1). La germinación de semillas de *Baccharis linearis* fue mayor en el control y el tratamiento de escarificación mecánica que en el tratamiento de estratificación húmeda-fría (H=19.0,  $P < 0.001$ ), mientras que las semillas de *G. anethifolia* aumentaron su germinación al ser estratificadas en húmedo y frío con respecto a aquellas escarificadas (H=7.1,  $P = 0.028$ ). El porcentaje

**Tabla 1.** Porcentaje de germinación (media $\pm$ ES) (G), inicio de germinación (IG) y tiempo medio de germinación (TMG) de las especies nativas estudiadas en el control (C), escarificación mecánica (EM) y estratificación húmeda-fría (EHF). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (pruebas de Kruskal-Wallis o Mann-Whitney;  $P < 0.05$ ). En *Haplopappus glutinosus* y *Baccharis linearis*, el IG en EHF no se calculó debido a que la mayoría de las semillas germinaron durante la estratificación.

**Table 1.** Percentage of germination (median $\pm$ ES) (G), initiation of germination (IG), and mean germination time (TMG) of studied native species in the control (C), mechanical scarification (EM), and cold wet stratification (EHF). Different letters indicate statistically significant differences among treatments (Kruskal-Wallis or Mann-Whitney tests;  $P < 0.05$ ). In *Haplopappus glutinosus* and *Baccharis linearis*, IG in EHF was not calculated because the majority of seeds were germinated during the stratification.

	G (%)			IG (días)			TMG (días)		
	C	EM	EHF	C	EM	EHF	C	EM	EHF
Estepa									
<i>Acaena magellanica</i>	72 $\pm$ 4a	82 $\pm$ 3a	74 $\pm$ 4a	8a	4b	4b	19a	17a	7b
<i>Acaena splendens</i>	67 $\pm$ 5a	73 $\pm$ 4a	62 $\pm$ 5a	26a	17a	5b	48a	46a	28b
<i>Baccharis linearis</i>	96 $\pm$ 2a	88 $\pm$ 3a	70 $\pm$ 3b	4a	4a	-	7a	5b	-
<i>Grindelia anethifolia</i>	32 $\pm$ 4ab	25 $\pm$ 3b	40 $\pm$ 4a	4a	4a	4a	8a	8a	4b
Bosque									
<i>Acaena ovalifolia</i>	94 $\pm$ 2a	92 $\pm$ 2a	88 $\pm$ 4a	12a	11a	16a	22a	24ab	32b
<i>Acaena pinnatifida</i>	7 $\pm$ 2a	19 $\pm$ 2b	12 $\pm$ 4ab	47a	31ab	27b	64a	63a	55a
<i>Anemone multifida</i>	59 $\pm$ 5a	91 $\pm$ 2b	58 $\pm$ 9a	10ab	7b	20a	25a	23a	44b
<i>Haplopappus glutinosus</i>	37 $\pm$ 4a	39 $\pm$ 4a	45 $\pm$ 2a	8a	7a	-	22a	15a	-

de germinación no fue significativamente diferente entre los tratamientos en *Acaena magellanica* y *A. splendens* ( $H=3.5$ ,  $P=0.173$  y  $H=0.9$ ,  $P=0.649$ , respectivamente) (Tabla 1). Ambos tratamientos pre-germinativos iniciaron la germinación antes que su grupo control en *A. magellanica* ( $H=17.5$ ,  $P<0.001$ ), mientras que solo la estratificación húmeda-fría fue más rápida en *A. splendens* ( $H=21.4$ ,  $P<0.001$ ). En *G. anethifolia*, los valores de inicio de germinación en los tratamientos y control fueron similares (Tabla 1). El tratamiento de estratificación disminuyó el tiempo medio de germinación en todas las especies de estepa ensayadas: *A. magellanica* ( $H=23.9$ ,  $P<0.001$ ), *A. splendens* ( $H=12.3$ ,  $P=0.02$ ) y *G. anethifolia* ( $H=9.7$ ,  $P=0.008$ ) (Tabla 1).

Para aquellas semillas provenientes de áreas de bosque, los porcentajes de germinación en todos los tratamientos fueron  $\geq 88\%$  en *A. ovalifolia* y  $\geq 58\%$  en *Anemone multifida*, mientras que fueron  $\leq 45\%$  tanto en *A. pinnatifida* como en *Haplopappus glutinosus* (Tabla 1). Las semillas escarificadas de *A. pinnatifida* y *A. multifida* aumentaron significativamente su germinación con respecto a las semillas del control ( $H=8.6$ ,  $P=0.014$  y  $H=14.7$ ,  $P=0.001$ , respectivamente). En el caso de *A. ovalifolia* y *H. glutinosus* no se encontraron diferencias entre ambos tratamientos y el control ( $H=0.9$ ,  $P=0.65$ ;  $H=3.1$ ,  $P=0.21$ , respectivamente). El grupo de semillas de *A. pinnatifida* con estratificación inició la germinación antes que el control ( $H=10.1$ ,  $P=0.006$ ), mientras que en *A. multifida* la retrasó con respecto a la escarificación mecánica ( $H=15.5$ ,  $P<0.001$ ). En *H. glutinosus* no encontramos diferencias significativas en el tiempo de inicio de la germinación entre el control y el tratamiento de escarificación ( $U=41$ ,  $P=0.52$ ). La estratificación aumentó el tiempo medio de germinación en *A. multifida* ( $H=15.7$ ,  $P<0.001$ ) (Tabla 1).

Un gran porcentaje de las semillas no germinadas en *A. pinnatifida*, *G. anethifolia* y *H. glutinosus* fueron viables en todos los tratamientos (Figura 1). Las especies que tuvieron un alto porcentaje de semillas vanas detectadas post-ensayo de germinación fueron *A. magellanica*, *A. splendens*, *A. multifida* y *A. ovalifolia*; las especies que presentaron semillas con signos de predación fueron *A. multifida*, *A. pinnatifida* y *G. anethifolia* (Figura 1).

Las primeras dos dimensiones del análisis de componentes principales de las tres variables estimadas para todos los tratamientos y especies (con excepción de *B. linearis* e *H.*

*glutinosus* en el tratamiento de estratificación húmeda-fría) presentaron autovalores mayores a 1 ( $CP1=5.9$ ,  $CP2=2.2$ ), representando el 65.7% y el 24.2% de la variabilidad total, respectivamente, y ambos acumularon el 89.9% de la variabilidad total. El tiempo medio de germinación y el inicio de la germinación del control y el tratamiento de escarificación mecánica se asociaron positivamente con el  $CP1$ , y el porcentaje de germinación del control y de ambos tratamientos pre-germinativos se correlacionaron negativamente (Figura 2a). El  $CP2$  se asoció positivamente con el porcentaje de germinación del control y de ambos tratamientos pre-germinativos (Figura 2a). En el plano definido por ambas componentes identificamos cuatro grupos de especies (Figura 2b).

**Grupo 1.** Constituido por *A. magellanica*, *B. linearis*, *Eringium paniculatum* y *Oenothera odorata* (todas provenientes de estepa), con medios a altos porcentajes de germinación y bajos valores de tiempo medio de germinación e inicio de germinación en todos los tratamientos, con excepción de *B. linearis*, para la cual no se estimó el tiempo medio de germinación e inicio de germinación en el tratamiento de estratificación húmeda-fría.

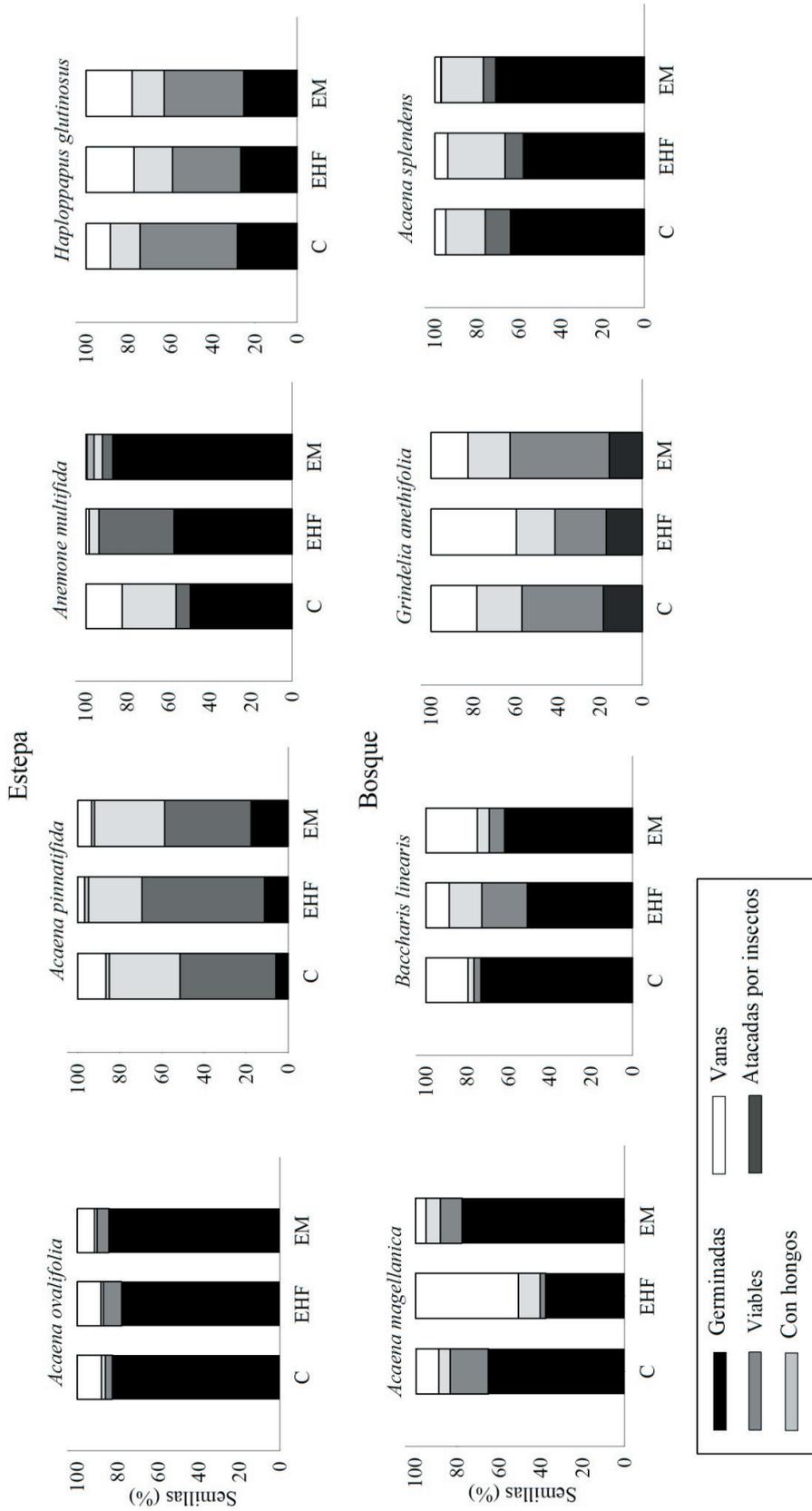
**Grupo 2.** Conformado por *G. anethifolia*, *H. glutinosus* y *Phacelia secunda*, con bajos porcentajes de germinación, medios a altos valores de tiempo medio de germinación y bajos valores de inicio de germinación en todos los tratamientos, con excepción de *H. glutinosus*, para la cual no se estimó el tiempo medio de germinación e inicio de germinación en el tratamiento de estratificación húmeda-fría.

**Grupo 3.** Conformado por *A. splendens*, *A. ovalifolia* y *A. multifida*, con medios a altos porcentajes de germinación y altos valores de tiempo medio de germinación e inicio de germinación en los tratamientos de escarificación y estratificación.

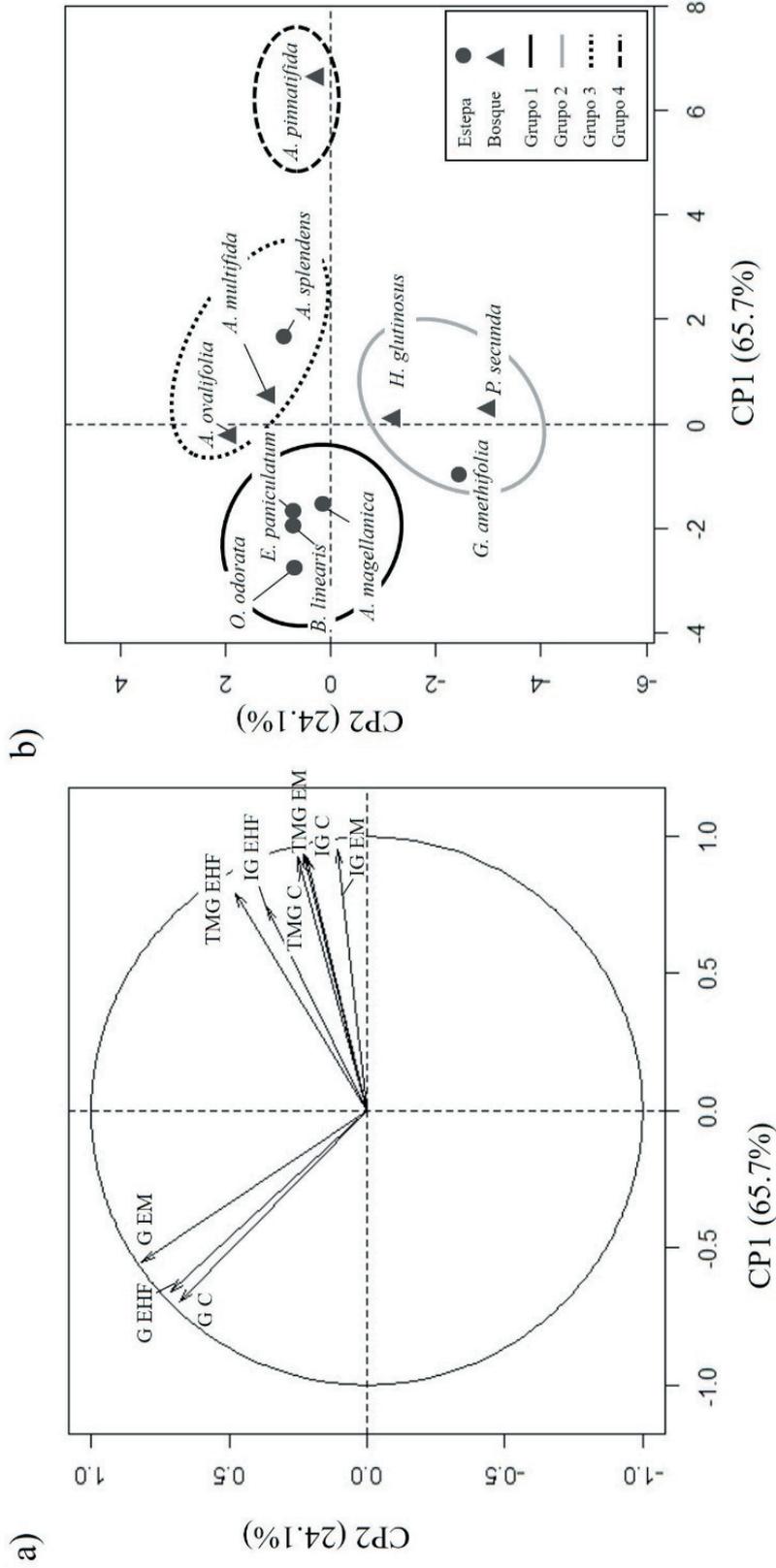
**Grupo 4.** Conformado por *A. pinnatifida*, con bajos porcentajes de germinación en todos los grupos y altos valores de tiempo medio de germinación e inicio de la germinación en el control y el tratamiento de escarificación.

## DISCUSIÓN

Encontramos que el ambiente de origen de las ocho especies de semillas seleccionadas no se asocia con la prevalencia de diferentes



**Figura 1.** Porcentaje de semillas germinadas, turgentes (viables) y no viables (vanas y atacadas por insectos) y con hongos de cada especie al finalizar los ensayos de germinación. C: control, EHF: estratificación húmeda-fría y EM: escarificación mecánica.  
**Figure 1.** Percentage of germination, turgent (viables), non-viables (empty and damaged by insects) and with fungi of each species when the essays were finished. C: cold wet stratification and EM: mechanical scarification



**Figura 2.** Análisis de componentes principales de las especies estudiadas según las tres variables medidas (C: germinación, TMG: tiempo medio de germinación, IG: tiempo de inicio de la germinación) en cada grupo de semillas (C: control, EHF: tratamiento de estratificación húmeda-fría, EM: tratamiento de escarificación mecánica). a) Correlación de las variables por grupo con las dos primeras componentes (CP1 y CP2). b) Ordenamiento de las especies en el plano de las dos primeras componentes principales. Entre paréntesis se muestran los porcentajes de la variabilidad explicada por cada componente. Las elipses engloban los grupos de especies.

**Figure 2.** Principal component analysis of studied species based the measured three variables (G: germination, TMG: mean germination time, IG: start of germination) in each group of seeds (C: control, EHF: cold wet stratification, EM: mechanical scarification). a) Correlation of the variables with the first two components (CP1 and (CP2). b) Ordination of the species in the plan of the first two principal components. The percentages of variability explained by each axis are showed in brackets. The ellipses encompass the species groups.

mecanismos de dormición del modo que esperábamos (física en ambientes secos y fisiológica en ambientes húmedos). Las semillas de las especies provenientes de áreas de estepa no aumentaron significativamente su germinación con el tratamiento de escarificación, ni las semillas de áreas de bosque lo hicieron con el tratamiento de estratificación húmeda-fría. En cambio, encontramos que, en general, las semillas de las especies de ambos ambientes (estepa y bosque) no presentaron dormición o esta fue del tipo fisiológica. Estos resultados coinciden con un estudio reciente en el que se analizó la distribución geográfica de los tipos de dormición en diferentes ambientes (Rosbakh et al. 2023). La asociación entre un ambiente seco y la dormición física proviene de que este tipo de dormición es más común en semillas con cubiertas duras, que evitan la desecación como una respuesta adaptiva a condiciones áridas (Baskin and Baskin 2014). Sin embargo, las especies de ambiente semiárido seleccionadas para nuestro trabajo (que colonizan los taludes viales focales) en general no poseen semillas con cubiertas duras, por lo que la expectativa puede no estar del todo justificada. Por otro lado, la estacionalidad climática, tanto en términos de temperatura como de precipitación, es una condicionante más fuerte sobre la distribución de los patrones globales de dormición en comparación con la temperatura y precipitación media anual (Rosbakh et al. 2023). En nuestra hipótesis consideramos la precipitación media anual de cada ambiente (i.e., 560 mm en estepa y entre 1100 y 2000 mm en los bosques en el gradiente de precipitación), pero no la marcada estacionalidad (i.e., inviernos húmedos y fríos y veranos secos) que se presenta en ambos tipos de ambientes. Las semillas de las especies seleccionadas son dispersadas desde mediados del verano hacia inicio del otoño y la germinación se produce en otoño (semillas sin dormición) o en primavera. En el último caso, las semillas son estratificadas con las bajas temperatura del invierno, rompiendo su dormición —que sería del tipo fisiológica— y evitando la germinación en un período desfavorable (Venable 2007).

Otro factor que pudo afectar la respuesta de las semillas a los tratamientos pre-germinativos fueron las condiciones de almacenamiento en frío seco previo los ensayos, que por lo general evitan la pérdida de viabilidad y la dormición secundaria, pero también pueden afectar la germinación de las semillas (Baskin and Baskin 2020). En prácticas

de restauración con siembra, las semillas son cosechadas y almacenadas hasta el momento de la intervención, y en aquellas especies cuyas condiciones de almacenamiento son desconocidas (como en las especies nativas) es una práctica estándar almacenar las semillas en condiciones de frío (De Vitis et al. 2020). Además, es probable que algunas semillas queden dormantes con estos tratamientos pre-germinativos y precisen la aplicación de otros tratamientos diferentes para disparar su germinación (Gonzalez and Ghermandi 2012).

Por otro lado, las relaciones filogenéticas pueden condicionar los mecanismos de dormición (Carta et al. 2016; Dayrell et al. 2017; Seglías et al. 2018); por ejemplo, todas las especies mediterráneas del género *Romulea* (Iridaceae) interrumpen su dormición con una estratificación menor a 15 °C (Carta et al. 2016). La ausencia de mecanismos de dormición y la dormición fisiológica son comunes en las familias Rosaceae y Asteraceae (Baskin and Baskin 2014; Willis et al. 2014; Dayrell et al. 2017; Kildisheva et al. 2020). En nuestro trabajo, las especies del género *Acaena* (Rosaceae) no mostraron mecanismos de dormición (*Acaena ovalifolia*) o presentaron dormición que podría ser del tipo fisiológica (*A. splendens*, *A. pinnatifida* y *A. magellanica*), al igual que las asteráceas *Haplopappus glutinosus* y *Grindelia anethifolia*. Las semillas de *Baccharis linearis* (Asteraceae), al igual que las de otras congéneres, no presentaron dormición (Gomes and Fernandes 2002; García et al. 2006; Dayrell et al. 2017). La ausencia de mecanismos de dormición también se registró en especies de *Oenothera* (RBGK 2008; Baskin and Baskin 2014), en coincidencia con lo observado en *O. odorata*. Sin embargo, para corroborar la hipótesis alternativa de que las relaciones filogenéticas están condicionando los mecanismos de dormición es necesario llevar a cabo estudios que incluyan un mayor número de especies y familias.

Es necesario conocer los tratamientos pre-germinativos para romper la dormición y los requerimientos de germinación para poder propagar la mayor cantidad de plantas en un tiempo reducido y así optimizar el período de crecimiento y la propagación ex situ (Rovere 2006). Es deseable obtener valores altos de germinación en un período de tiempo corto, en especial en los taludes, donde la disponibilidad de agua es baja y la germinación temprana es ventajosa para colonizar rápidamente el espacio y aprovechar

los recursos (Bochet et al. 2010). Nuestro estudio aporta resultados valiosos sobre los requerimientos eco-fisiológicos de especies nativas de estepa y bosque que colonizan los taludes viales de estas áreas del noroeste patagónico. Sobre la base de las distintas variables estimadas en grupos de semillas sometidas a diferentes tratamientos pudimos separar a las especies sin dormición (con alta tasa de germinación sin tratamientos previos), constituido en su mayoría por las especies que en el análisis multivariado identificamos como grupo 1 (*Baccharis linearis*, *Eryngium paniculatum* y *Oenothera odorata*) (Chichizola et al. 2018; Chichizola et al. 2019b) de aquellas especies cuyas semillas presentaron algún tipo de dormición: grupo 2 (*G. anethifolia*, *H. glutinosus* y *Phacelia secunda*), grupo 3 (*A. splendens* y *Anemone multifida*) y grupo 4 (*A. pinnatifida*). Las diferencias entre estos últimos grupos radicaron en los tiempos medios de germinación e inicio de la germinación.

En cuanto a las especies que no presentaron dormición, las condiciones de temperatura seleccionadas en nuestro trabajo indujeron valores similares de germinación de *A. ovalifolia*, pero en menor tiempo (22 días) que en estudios previos (91 días con temperatura alternada de 21/5 °C y constante de 21 °C) (RBGK 2008). *Baccharis linearis* tuvo un alto porcentaje de germinación tanto sin tratamientos pre-germinativos (96%) como al ser las semillas tratadas con agua caliente (91%) (Doll et al. 2013), valor que bajó cuando las semillas fueron estratificadas en húmedo-fría (este estudio: 76%) (Doll et al. 2013: 46% con 60 días a 4-6 °C). Concluimos que estas especies no precisan de tratamientos pre-

germinativos para germinar en condiciones de temperatura y humedad adecuadas (Tabla 2).

El resto de las especies estudiadas (*A. pinnatifida*, *A. multifida*, *H. glutinosus*, *G. anethifolia*, *P. secunda* y *A. splendens*) mostraron mecanismos de dormición en sus semillas, con algunos casos en que la aplicación de los tratamientos pre-germinativos seleccionados pudo romperla y aumentar o acelerar la germinación. La escarificación mecánica rompió la dormición y promovió la germinación de las semillas en *A. pinnatifida* y *A. multifida*. En *A. pinnatifida*, la escarificación aumentó la germinación un 12% con respecto al control, pero aun así, el valor se mantuvo demasiado bajo (19%) como para utilizar este tratamiento en la propagación eficiente de esta especie. En otro estudio, las semillas de esta especie estratificadas (3 meses a 4 °C) germinaron solo en un 6% (sin germinación en el control) (Cavieres and Sierra-Almeida 2018). Sugerimos aplicar escarificación mecánica para romper la dormición (Tabla 2), pero es necesario realizar más estudios dado sus bajos valores de germinación. En el caso de *A. multifida*, las investigaciones sobre esta y otras especies del género determinaron que la dormición sería del tipo morfofisiológica (Ernst 1983; Verheyen and Hermy 2004; Luna et al. 2008; Ge et al. 2020). En *A. rivularis* y *A. nemerosa* se reportó que la germinación no aumentó significativamente post-estratificación (Ernst 1983; Verheyen and Hermy 2004; Ge et al. 2020), mientras que en *A. multifida* (EEUU), el 60% de las semillas germinó luego de 6 meses de almacenamiento y 120 días de estratificación (Luna et al. 2008),

**Tabla 2.** Pre-tratamientos germinativos recomendados para la propagación de las especies nativas estudiadas, en base al porcentaje de germinación, el inicio de germinación y el tiempo medio de germinación. EM: escarificación mecánica; EHF: estratificación húmeda-fría.

**Table 2.** Recommended germination pre-treatments for the propagation of the studied native species, based on germination percentage, germination initiation and mean germination time. EM: mechanical scarification; EHF: cold wet stratification.

Especie	Sin tratamiento	Tratamiento	
		EM	EHF
<i>Acaena magellanica</i>			X
<i>Acaena ovalifolia</i>	X		
<i>Acaena pinnatifida</i>		X	
<i>Acaena splendens</i>			X
<i>Anemome multifida</i>		X	
<i>Baccharis linearis</i>	X		
<i>Eryngium paniculatum</i>	X		
<i>Grindelia anethifolia</i>	X		
<i>Haplopappus glutinosus</i>	X		
<i>Oenothera odorata</i>	X		
<i>Phacelia secunda</i>	X		

un valor similar al obtenido en nuestro trabajo sin estratificación. En el presente trabajo, la germinación aumentó notoriamente con la escarificación mecánica (59 a 91%), por lo que concluimos que las semillas de esta especie tienen dormición física y sugerimos aplicar este tratamiento para romperla (Tabla 2).

Entre las especies cuyas semillas presentaron dormición, pero no pudimos identificar de qué tipo, ya que los tratamientos aplicados no fueron efectivos, encontramos a *H. glutinosus*, *G. anethifolia*, *P. secunda* (Chichizola et al. 2019b) y *Acaena splendens*. Las semillas de otras especies del género *Haplopappus* presentaron dormición fisiológica y requirieron una estratificación húmeda-fría para romper la dormición e incrementar la germinación; por ejemplo, *H. squarrocus*, *H. discoideum*, *H. racemosa* (Baskin and Baskin 2014), *H. scaposus* y *H. pulchellus* (Doll et al. 2013). En el caso de *H. scaposus*, la estratificación se realizó a 4-6 °C durante 60 días. En nuestro estudio se observó una tendencia a incrementarse la germinación en semillas estratificadas, además de adelantar y acelerar la germinación (Tabla 1). Es probable que un período de estratificación más prolongado favorezca la germinación de *H. glutinosus*. En *G. anethifolia* se observó la misma tendencia que en *H. glutinosus* en semillas estratificadas. *Grindelia squarrosa* presentó dormición del tipo fisiológica, incrementándose la germinación en semillas estratificadas durante 90 días (Tilley and Pickett 2021). En *G. compositum* se reportó un porcentaje de germinación del 75% de semillas estratificadas a 8 °C durante solo 4 días, con posterior incubación a una temperatura 10/20 °C (Zafar et al. 1994). Las semillas de *P. secunda* precisaron un prolongado período de estratificación para aumentar la germinación al 80% (Arroyo et al. 1999). En nuestro estudio, un alto porcentaje de las semillas estratificadas, pero que no germinaron, eran viables, mostrando que probablemente estas semillas precisaban un período más extenso de estratificación. En síntesis, *H. glutinosus*, *G. anethifolia* y *P. secunda* podrían tener una dormición del tipo fisiológica que podría romperse con las condiciones adecuadas de estratificación, no dadas en nuestro estudio. Sugerimos no aplicar ningún pre-tratamiento germinativo y continuar investigando los requerimientos de germinación en estas tres especies (Tabla 2).

Si bien los tratamientos pre-germinativos no aumentaron la germinación de *A. splendens* con

respecto al control, la estratificación húmeda-fría adelantó y aceleró la germinación. En otro estudio, semillas estratificadas a 4 °C durante 90 días germinaron un 70% (Cavieres and Sierra-Almeida 2018), valor cercano al obtenido en nuestro trabajo (62%). Dado que el tratamiento de estratificación disminuyó significativamente el inicio de germinación y aceleró la germinación en 20 días con respecto al control, podemos sugerir la aplicación de este pre-tratamiento (Tabla 2).

Por último, la calidad de las semillas afecta el potencial de germinación y es una restricción importante al momento de realizar prácticas de siembra en planes de rehabilitación (Suárez-Esteban et al. 2018), por lo que debe considerarse durante su cosecha y acondicionamiento pre-siembra. Luego de los ensayos de germinación encontramos un alto porcentaje de semillas vanas en todas las asteráceas, en *A. magellanica* y en *O. odorata*, o dañadas por insectos en *A. splendens*. Antes de las siembras recomendamos realizar pruebas no destructivas de viabilidad de las semillas, por ejemplo mediante el método de flotación (Varela and Arana 2011).

En síntesis, en este trabajo identificamos a *A. ovalifolia* (bosque), *B. linearis*, *E. paniculatum* y *O. odorata* (todas de estepa) como especies promisorias para propagar, a fin de ser usadas en la revegetación de taludes. Estas especies tienen semillas no dormantes y con altas tasas de germinación bajo las condiciones de temperatura y fotoperíodo utilizadas en este estudio. Además de ser colonizadoras de ambientes disturbados, *B. linearis* y *O. odorata* son fitorremediadoras, característica destacada para sanear suelos contaminados (Menares et al. 2017; Gazitúa et al. 2021; Ginocchio et al. 2021). Por otro lado, las semillas de *A. multifida* presentan dormición del tipo física, que se puede romper con una simple escarificación mecánica). Los demás resultados de este trabajo constituyen una base para futuras investigaciones que intenten determinar el tipo de dormición y el mejor protocolo para cada especie antes de su siembra ex situ o in situ dentro de los planes de revegetación de áreas degradadas en esta región.

AGRADECIMIENTOS. Queremos agradecer a Luis Acostas Vargas y a Claudio Ziperovich por su ayuda en los ensayos de laboratorio. Además, agradecemos los comentarios y sugerencias de los revisores y el editor Fernando A. Milesi que enriquecieron este manuscrito.

## REFERENCIAS

- Amoroso, M. M., P. L. Peri, M. V. Lencinas, R. Soler Esteban, A. E. Rovere, et al. 2021. Capítulo 11: Región patagónica (Bosques Andino Patagónicos). Pp. 693-809 en P. L. Peri, G. J. Martínez Pastur and T. Schlichter (eds.). Uso sostenible del bosque: Aportes desde la Silvicultura Argentina. 1ra ed. Ministro de Ambiente y Desarrollo Sostenible de la Nación (MAyDS), Buenos Aires, Argentina.
- Arana, M. V., M. González-Polo, A. Martínez-Meier, L. A. Gallo, R. L. Benech-Arnold, R. A. Sánchez, and D. Batlla. 2016. Seed dormancy responses to temperature relate to *Nothofagus* species distribution and determine temporal patterns of germination across altitudes in Patagonia. *New Phytologist* 209(2):507-520. <https://doi.org/10.1111/nph.13606>.
- Arroyo, M. T. K., L. A. Cavieres, C. Castor, and A. M. Humaña. 1999. Persistent soil seed bank and standing vegetation at a high alpine site in the central Chilean Andes. *Oecologia* 119(1):126-132. <https://doi.org/10.1007/s004420050768>.
- Bainbridge, D. 2007. A guide for desert and dryland restoration: New hope for Arid Lands. Island Press, Washington, United States.
- Baskin, C. C., and J. M. Baskin. 2003. When breaking seed dormancy is a problem try a move-along experiment. *Native Plants Journal* 4(1):17-21. <https://doi.org/10.3368/npi.4.1.17>.
- Baskin, C. C., and J. M. Baskin. 2014. Seeds. Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Segunda edición. Elsevier Inc. San Diego, United States.
- Baskin, C. C., and J. M. Baskin. 2020. Breaking seed dormancy during dry storage: a useful tool or major problem for successful restoration via direct seeding? *Plants* 9(5):636. <https://doi.org/10.3390/plants9050636>.
- Beider, A. 2012. Viverización de especies nativas de zonas áridas. *Experimentia, Revista de Transferencia Científica* 2:9-67.
- Bochet, E., P. García-Fayos, and J. Tormo. 2010. How can we control erosion of roadslopes in semiarid Mediterranean areas? Soil improvement and native plant establishment. *Land Degradation and Development* 21(2):110-121. <https://doi.org/10.1002/ldr.911>.
- Cabrera, A. L. 1971. Fitogeografía de la República Argentina, *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 14:1-42.
- Carta, A., S. Hanson, and J. V. Müller. 2016. Plant regeneration from seeds responds to phylogenetic relatedness and local adaptation in Mediterranean *Romulea* (Iridaceae) species. *Ecology and Evolution* 6(12):4166-4178. <https://doi.org/10.1002/ece3.2150>.
- Cavieres, L. A., and A. Sierra-Almeida. 2018. Assessing the importance of cold-stratification for seed germination in alpine plant species of the High-Andes of central Chile. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 30: 125-131. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2017.09.005>.
- Clewell, A., J. Aronson, and K. Winterhalder. 2004. Principios de SER International sobre la restauración ecológica. Sociedad Internacional para la restauración ecológica, Tucson, Estados Unidos.
- Chichizola, G. A. 2022. Ecología de la restauración en áreas degradadas por obras viales en el noroeste patagónico. Tesis Doctoral. Centro Regional Universitarios Bariloche, Universidad Nacional del Comahue, Bariloche. Argentina. Pp. 278.
- Chichizola, G. A., A. E. Rovere, and S. L. Gonzalez. 2018. Germination of *Oenothera odorata*, endemic ruderal Onagraceae from Argentina. *Phyton, International Journal of Experimental Botany* 87:265-273. <https://doi.org/10.32604/phyton.2018.87.265>.
- Chichizola, G. A., A. E. Rovere, and S. L. Gonzalez. 2019a. Desarrollo urbano e infraestructura: estudio ecológico para la rehabilitación de taludes viales en Bariloche. *Revista de la Asociación Argentina de Ecología de Paisajes* 9(1): 115-118.
- Chichizola, G. A., A. E. Rovere, and S. L. Gonzalez. 2019b. Seed germination of *Phacelia secunda* (Boraginaceae) and *Eryngium paniculatum* (Apiaceae), perennial herbs from Patagonia Argentine. *Revista Peruana de Biología* 26(3):311-316. <https://doi.org/10.15381/rpb.v26i3.16774>.
- Coffin, A. W. 2007. From roadkill to road ecology: a review of the ecological effects of roads. *Journal of Transport Geography* 15(5):396-406. <https://doi.org/10.1016/j.jtrangeo.2006.11.006>.
- Cross, A. T., S. Pedrini, and K. W. Dixon. 2020. Foreword: international standards for native seeds in ecological restoration. *Restoration Ecology* 28:S216-S218. <https://doi.org/10.1111/rec.13173>.
- Dayrell, R. L., Q. S. Garcia, D. Negreiros, C. C. Baskin, J. M. Baskin, and F. A. O. Silveira. 2017. Phylogeny strongly drives seed dormancy and quality in a climatically buffered hotspot for plant endemism. *Annals of Botany* 119(2): 267-277. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw163>.
- De Vitis, M., F. R. Hay, J. B. Dickie, C. Trivedi, J. Choi, and R. Fiegner. 2020. Seed storage: maintaining seed viability and vigor for restoration use. *Restoration Ecology* 28:S249-S255. <https://doi.org/10.1111/rec.13174>.
- Doll, U., M. Fredes, and C. Soto. 2013. Efecto de distintos tratamientos pregerminativos sobre la germinación de seis especies nativas de la región mediterránea de Chile. *Idesia* 31(3):71-76. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292013000300010>.
- Ernst, W. H. O. 1983. Population biology and mineral nutrition of *Anemone nemorosa* with emphasis on its parasitic fungi. *Flora* 173(5-6):335-348. [https://doi.org/10.1016/S0367-2530\(17\)32014-5](https://doi.org/10.1016/S0367-2530(17)32014-5)
- Ezcurra, C., and C. Brion. 2005. Plantas del Nahuel Huapi: Catálogo de la Flora Vasculare del Parque Nacional Nahuel Huapi, Argentina. Universidad Nacional del Comahue y Red Latinoamericana de Botánica, Bariloche, Argentina.
- Fenner, M., and K. Thompson. 2005. The Ecology of Seeds. Cambridge University Press, United Kingdom. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511614101>.

- Figuerola, J. A., and F. M. Jaksic. 2004. Latencia y banco de semillas en plantas de la región mediterránea de Chile central. *Revista Chilena de Historia Natural* 77:201-215. <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2004000100016>.
- García, L. C., F. D. V. Barros, and J. P. Lemos Filho. 2006. Comportamento germinativo de duas espécies de canga ferrífera: *Baccharis retusa* DC. (Asteraceae) e *Tibouchina multiflora* Cogn. (Melastomataceae). *Acta Botanica Brasilica* 20(2):443-448. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062006000200019>.
- Gazitúa, M. C., V. Morgante, M. J. Poupin, T. Ledger, G. Rodríguez-Valdecantos, C. Herrera, M. del Carmen González-Chávez, R. Ginocchio, and B. González. 2021. The microbial community from the early-plant colonizer (*Baccharis linearis*) is required for plant establishment on copper mine tailings. *Scientific Reports* 11(1):1-6. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89769-1>.
- Ge, W., H. Bu, X. Wang, Y. Xia, SA Martinez, X. Wang, W. Qi, K. Liu, and G. Du. 2020. Changes in endogenous hormone contents during seed germination of *Anemone rivularis* var. *flore-minore*. *Global Ecology and Conservation* 24:e01200. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2020.e01200>.
- Ginocchio, R., L. M. de la Fuente, F. Orrego, M. J. Díaz, J. Báez, and J. F. Ovalle. 2021. A novel fast-vegetative propagation technique of the pioneer shrub *Baccharis linearis* on mine tailings by adding compost. *International Journal of Phytoremediation* 23(11):1169-1174. <https://doi.org/10.1080/15226514.2021.1882383>.
- Gomes, V., and G. W. Fernandes. 2002. Germination of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) achene. *Acta Botanica Brasilica* 16(4):421-427. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062002000400005>.
- Gonzalez, S., and L. Ghermandi. 2012. Fire cue effects on seed germination of six species of northwestern Patagonian grasslands. *Natural Hazards and Earth System Sciences* 12(9):2753-2758. <https://doi.org/10.5194/nhess-12-2753-2012>.
- Gosling, P. G. 2003. Chapter 24: Viability Testing. Pp. 445-481 *en* R. D. Smith, J. B. Dickie, S. H. Linington, H. W. Pritchard and R. J. Probert (eds.). *Seed Conservation: turning science into practice*. The Royal Botanic Gardens Kew, Great Britain.
- Harper, J. L. 1977. *Population biology of plants*. Academic press. London, United Kingdom.
- Hartmann, H. T., and D. E. Kester. 1980. *Propagación de plantas: principios y prácticas*. Compañía Editorial Continental S.A., México.
- IBM. 2015. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. IBM Corp., New York, United States. URL: [ibm.com/mx-es/spss](http://ibm.com/mx-es/spss).
- Kassambara, A., and F. Mundt. 2022. Package factoextra: extract and visualize the results of multivariate data analyses. R Package Version 1.0.7. URL: [rpkgs.datanovia.com/factoextra/index.html](http://rpkgs.datanovia.com/factoextra/index.html).
- Khajeh-Hosseini, M., A. A. Powell, and I. J. Bingham. 2003. The interaction between salinity stress and seed vigour during germination of soybean seeds. *Seed Science and Technology* 21:715-725. <https://doi.org/10.15258/sst.2003.31.3.20>.
- Kildisheva, O. A., K. W. Dixon, F. A. Silveira, T. Chapman, A. Di Sacco, A. Mondoni, S. R. Turner, and A. T. Cross. 2020. Dormancy and germination: making every seed count in restoration. *Restoration Ecology* 28(3):256-265. <https://doi.org/10.1111/rec.13140>.
- Lamb, D., and D. Gilmour. 2003. *Rehabilitation and restoration of degraded forest: issues of forest conservation*. IUCN - The world Conservation Union, Gland, Switzerland.
- Lê, S., J. Josse, and F. Husson. 2008. FactoMineR: a package for multivariate analysis. *Journal of Statistical Software* 25(1):1-18. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>.
- Legendre, P., and L. Legendre. 2012. *Numerical Ecology*. Tercera edición. Elsevier, Oxford, United Kingdom.
- Luna, T., D. Wick, and J. Hosokawa. 2008. Propagation protocol for production of container (plug) *Anemone multifida* Poir plants 172 ml containers; USDI NPS - Glacier National Park West Glacier, Montana. Native Plant Network. URL: [NativePlantNetwork.org](http://NativePlantNetwork.org). US Department of Agriculture, Forest Service, National Center for Reforestation, Nurseries, and Genetic Resources.
- Nittmann, J. 2010. Rehabilitación de canteras a partir de trasplante directo de individuos adultos. Pp. 44-44 *en* D. R. Pérez, A. E. Rovere and F. M. Farinaccio (eds.). *Rehabilitación en el desierto: Ensayos con plantas nativas en Aguada Pichana*. Neuquén, Patagonia. Vázquez Mazzini Editores, Buenos Aires, Argentina.
- Masini, A. C. A., A. E. Rovere, and D. R. Pérez. 2012. Requerimientos pre-germinativos de dos especies leñosas: *Anarthrophyllum capitatum* y *Anarthrophyllum elegans*. *Revista Quebracho* 20:85-96.
- Masini, A. C. A., A. E. Rovere, and G. I. Pirk. 2014. Requerimientos pre-germinativos de *Maihuenia patagonica* y *Maihueniopsis darwinii*, cactáceas endémicas de Patagonia. *Gayana Botánica* 71:188-198. <https://doi.org/10.4067/S0717-66432014000200002>.
- Menares, F., M. A. Carrasco, B. González, I. Fuentes, and M. Casanova. 2017. Phytostabilization ability of *Baccharis linearis* and its relation to properties of a tailings-derived Technosol. *Water, Air, and Soil Pollution* 228(5):182. <https://doi.org/10.1007/s11270-017-3348-y>.
- Mola, I., M. D. Jiménez, N. López-Jiménez, M. A. Casado, and L. Balaguer. 2011. Roadside reclamation outside the revegetation season: management options under schedule pressure. *Restoration Ecology* 19(1):83-92. <https://doi.org/10.1111/j.1526-100X.2009.00547.x>.
- Pereyra, F. X. 2007. Geomorfología urbana de San Carlos de Bariloche y su influencia en los peligros naturales, Río Negro. *Revista de la Asociación Geológica Argentina* 62(2):309-20.
- Probert, R. 2000. The role of temperature in the regulation of seed dormancy and germination. Pp. 261-292 *en* M. Fenner (ed.). *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. CAB International, Wallingford, United Kingdom. <https://doi.org/10.1079/9780851994321.0261>.
- R Core Team. 2022. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing,

- Vienna, Austria. URL: R-project.org.
- RBGK. 2008. Royal Botanic Gardens Kew. Seed Information Database (SID). Versión 7.1. URL: [data.kew.org/sid/sidsearch.html](http://data.kew.org/sid/sidsearch.html).
- Rosbakh, S., A. Carta, E. Fernández-Pascual, S. S. Phartyal, R. L. Dayrell, E. Mattana, et al. 2023. Global seed dormancy patterns are driven by macroclimate but not fire regime. *New Phytologist* 240(2):555-64. <https://doi.org/10.1111/nph.19173>.
- Rovere, A. E. 2006. Cultivo de Plantas Nativas Patagónicas: árboles y arbustos. Editorial Caleuche. Bariloche, Argentina.
- Seglias, A. E., E. Williams, A. Bilge, and A. T. Kramer. 2018. Phylogeny and source climate impact seed dormancy and germination of restoration-relevant forb species. *PLoS One* 13(2):e0191931. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191931>.
- Siegel, S., and N. J. Castellan. 1995. Estadística no paramétrica: aplicada a las ciencias de la Conducta. Trillas, México.
- Suárez-Esteban, A., M. Delibes, and J. M. Fedriani. 2018. Dangerous life at the edge: Implications of seed predation for roadside revegetation. *Applied Vegetation Science* 21(1):55-63. <https://doi.org/10.1111/avsc.12349>.
- Tilley, D., and T. Pickett. 2021. Germination response of curlycup gumweed seed to oxygenated water treatment. *Native Plants Journal* 22(1):4-12. <https://doi.org/10.3368/npj.22.1.4>.
- Varela, S. A., and V. Arana. 2011. Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. Serie técnica: Sistemas Forestales Integrados. EEA Bariloche INTA 3:1-10. URL: [hdl.handle.net/20.500.12123/11393](http://hdl.handle.net/20.500.12123/11393).
- Venable, D. L. 2007. Bet hedging in a guild of desert annuals. *Ecology* 88(5):1086-90. <https://doi.org/10.1890/06-1495>.
- Verheyen, K., and M. Hermy. 2004. Recruitment and growth of herb-layer species with different colonizing capacities in ancient and recent forests. *Journal of Vegetation Science* 15(1):125-134. <https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2004.tb02245.x>.
- Willis, C. G., C. C. Baskin, J. M. Baskin, J. R. Auld, D. L. Venable, et al. 2014. The evolution of seed dormancy: environmental cues, evolutionary hubs, and diversification of the seed plants. *New Phytologist* 203(1):300-9. <https://doi.org/10.1111/nph.12782>.
- Zafar, S. I., W. H. Shah, and Z. U. Rehman. 1994. Studies on achene germination, transplantability, salinity tolerance, and cultivation of gumweed (*Grindelia camporum*) in hot and semi-arid conditions. *Field Crops Research* 37(1):77-84. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(94\)90083-3](https://doi.org/10.1016/0378-4290(94)90083-3).