

DORMANCIA Y GERMINACIÓN: HACIENDO QUE CADA SEMILLA CUENTE EN LA RESTAURACIÓN

Olga A. Kildisheva^{1,2}, Kingsley W. Dixon³, Fernando A. O. Silveira⁴, Ted Chapman⁵, Alice Di Sacco⁵, Andrea Mondoni⁶, Shane R. Turner^{3,7,8}, Adam T. Cross³

Resumen

Entre un 50 y 90% de especies de plantas silvestres alrededor del mundo producen semillas que se encuentran dormantes al momento de madurar, con rasgos específicos de dormancia determinados por su distribución geográfica, hábito de crecimiento y factores genéticos. Si bien la dormancia es una adaptación beneficiosa en ecosistemas naturales intactos, puede limitar el reclutamiento de plantas en escenarios de restauración, ya que las semillas pueden demorar varias estaciones en perder su dormancia y, por ende, presentar germinación baja o errática. Durante este periodo de dormancia, la depredación de semillas, competencia con malezas, erosión del suelo, y disminución en la viabilidad de semillas pueden llevar a que el restablecimiento fracase. Es fundamental entender y considerar los rasgos de dormancia y germinación para la planificación de la restauración, con el fin de asegurar un manejo efectivo y un uso eficiente de las semillas. Existen cinco clases de dormancia (fisiológica, física, combinada, morfológica, y morfofisiológica), cada una de ellas requiere una señal específica para quebrar dormancia y permitir la germinación. El estado de dormancia puede ser determinado mediante una serie de simples pasos que determinan la calidad inicial de la semilla y su germinación a lo largo de un rango de condiciones ambientales. En este artículo, delineamos los pasos necesarios para el proceso de clasificación de dormancia y las diversas metodologías para aliviar la dormancia ex situ. También realzamos la importancia de mantener registros y reportar información sobre la adquisición de semillas (por ejemplo, la ubicación geográfica del lugar de recolección de semillas, información sobre la limpieza y calidad de semillas, condiciones de almacenamiento, y datos sobre experimentos de dormancia) para asegurar que estos factores sean considerados adecuadamente en la planificación de la restauración.

¹ Verdant Consulting Group, LLC, Seattle, WA 98115, U.S.A

² Autora para correspondencia: O. Kildisheva. Correo electrónico: olga.kildisheva@gmail.com

³ Centre for Mine Site Restoration, School of Molecular and Life Sciences, Curtin University, Bentley, WA 6102, Australia

⁴ Department of Genetics, Ecology and Evolution, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil

⁵ Conservation Science, Royal Botanic Gardens Kew, Millennium Seed Bank, Wakehurst, Ardingly, West Sussex RH17 6TN, UK

⁶ Department of Earth and Environmental Science, University of Pavia, Pavia, Italy

⁷ Kings Park Science, Department of Biodiversity, Conservation and Attractions, Kings Park, WA 6005, Australia

⁸ School of Biological Sciences, University of Western Australia, Crawley, WA 6009, Australia

Palabras claves: clasificación de dormancia, ciclos de dormancia, llenado de semillas, calidad de semillas, análisis de semillas

Implicaciones para la práctica:

- La dormancia seminal ocurre en más del 50% de especies de plantas silvestres. La falta de entendimiento y consideración de los rasgos de dormancia y germinación en la planificación de restauración muchas veces contribuye al fracaso del establecimiento de plantas.
- Los rasgos de calidad, dormancia y germinación pueden ser evaluados siguiendo una serie de pasos estandarizados de análisis de semillas.
- Para mejorar los resultados, las consideraciones mencionadas en este artículo deben ser un componente estándar de cualquier planificación de restauración a base de semillas.

INTRODUCCIÓN

A diferencia de las plantas cultivadas, que han sido sujetas a un extenso mejoramiento genético, las semillas de muchas especies silvestres presentan algún grado de dormancia. La dormancia regula la germinación mediante varios medios físicos y/o fisiológicos impuestos por la cubierta seminal, o encontrados dentro del embrión (Baskin & Baskin 2014). La dormancia puede facilitar la persistencia de semillas durante periodos desfavorables asegurando que la germinación ocurra cuando las condiciones ambientales sean más probables de conducir al establecimiento de plántulas. Se consideran dormantes aquellas semillas frescas y viables que no germinan dentro de 4 a 6 semanas bajo condiciones consideradas como ideales (por ejemplo, suficiente humedad y temperatura adecuada) para sustentar el proceso de germinación (Baskin & Baskin 2004b; Baskin & Baskin 2004c).

La pérdida de dormancia está impulsada por la detección de señales ambientales como cambios temporales de humedad y temperatura, los cuales son detectados por las semillas mediante diferentes mecanismos (Baskin & Baskin 2014). Sin embargo, en algunas especies con requisitos complejos de germinación, aun

cuando se ha perdido dormancia, la germinación solo ocurrirá bajo condiciones medioambientales específicas como bajo luz u oscuridad (lo cual indica el nivel de apertura o disturbios en la vegetación) o en la respuesta a señales químicas como compuestos presentes en el humo, nitrato o etileno (indicativos de condiciones favorables para la germinación). Los requisitos para la liberación de dormancia y estimulación de la germinación varían según la clase de dormancia, y en algunos casos, entre distintas poblaciones dentro de una misma especie (Ellison 2001; Tieu et al. 2001b).

Cuando los requisitos de dormancia y germinación de las especies no son considerados adecuadamente en la planificación de la restauración, pueden llevar a altos niveles (más del 90%) de fallo de establecimiento de plantas y pérdida de semillas (James et al. 2011; Merrit & Dixon 2011; Commander et al. 2013; James et al. 2013). Para mejorar el éxito en la restauración y lograr los objetivos de los proyectos a un costo razonable, cada semilla debe tener la mejor oportunidad de germinar y establecerse (Turner et al. 2013).

50-90% de especies de plantas silvestres del mundo producen semillas que se encuentran dormantes al madurar, con rasgos de dormancia específicos relacionados a factores que incluyen condiciones ambientales, distribución geográfica, hábito de crecimiento, y genética (Baskin & Baskin 2014). La dormancia es una adaptación evolutiva que puede favorecer la supervivencia a largo plazo bajo condiciones naturales intactas (Willis et al. 2014), pero en el contexto de la restauración, donde el rápido establecimiento de plantas es crítico para prevenir mayor degradación, la dormancia puede plantear un desafío significativo (Turner et al. 2013). Debido a que las semillas pueden demorarse varias estaciones en perder dormancia, cuando son sembradas en el sitio a restaurar después del disturbio, se vuelven susceptibles a depredadores de semillas y patógenos, pérdida de viabilidad, y competencia con malezas – lo cual puede llevar al fracaso del re-establecimiento de plantas. Esto puede reducir significativamente el éxito de la restauración, particularmente cuando se trabaja con especies desafiantes y comunidades vegetales complejas (Broadhurst et al. 2016). Adicionalmente, requisitos especializados de dormancia y germinación también pueden dificultar los esfuerzos de incrementar la escala y diversidad de la producción de semillas ex situ, limitando la habilidad de los restauradores de trabajar

con múltiples especies a grandes escalas (Miller et al. 2017; Ladoucer et al. 2018). Entender y considerar rasgos de dormancia y germinación en la planificación de la restauración puede ayudar a asegurar que las semillas sean manipuladas de forma que se promueva su germinación durante los periodos que sean más favorables para el reclutamiento de plantas. La habilidad de definir la clase de dormancia es el primer paso para determinar los medios más efectivos de liberación de dormancia y debe ser considerado como conocimiento fundamental para todos los restauradores que trabajan con semillas nativas.

CLASES DE DORMANCIA

Actualmente, se reconocen cinco clases principales de dormancia (Tabla 1), aunque en algunos casos éstas son divididas en sub-niveles (Baskin & Baskin 2004b; Baskin & Baskin 2004c; Gama-Arachchige et al. 2013). La dormancia fisiológica (PD, por su sigla en inglés) es la clase de dormancia más común alrededor del mundo, presente en gimnospermas y en la mayoría de los clados en angiospermas (o grupos de especies postuladas de haber evolucionado de un ancestro en común) (Baskin & Baskin 2003b; Finch-Savage & Leubner-Metzger 2006; Willis et al. 2014). El embrión de semillas con PD está completamente desarrollado (Fig. 1, Tabla 1) pero tiene un bajo potencial de crecimiento. Debido a este bajo potencial de crecimiento, el embrión no puede sobrellevar la restricción mecánica de los tejidos que lo envuelven (ej. endospermo, cubierta seminal, o cubierta del fruto) sin recibir señales del ambiente que lo rodea. Estas señales dan inicio a reacciones químicas internas (que resultan debido al cambio en la proporción y sensibilidad de hormonas internas en la semilla), que promueven la pérdida de dormancia y germinación (Baskin & Baskin 2004b). La PD usualmente se quiebra por periodos de estratificación fríos o cálidos o post-maduración cálida y seca. Existen tres niveles reconocidos de PD: profundo, intermedio, y no profundo (Baskin & Baskin 2014).

La superficie externa de la cubierta del fruto o de las semillas de especies con dormancia física (PY) esta generalmente cubierta por al menos una capa (usualmente $\leq 200 \mu\text{M}$) de células en empalizada (o tipo empalizada) (Fig. 2). Estas capas impermeables de células en empalizada están compuestas por células esclereidas

que tienen paredes secundarias gruesas y lignificadas, las cuales son resistentes a la penetración del agua hacia el interior de la semilla (Langkamp 1987; Baskin et al. 2000; Gama Arachchige et al. 2013). La PY se quiebra cuando la capa impermeable al agua es degradada o dañada hasta el punto en que la absorción de agua (conocida como imbibición) puede ocurrir. En condiciones naturales, esta degradación generalmente ocurre en un área especializada de la semilla, llamada “water gap” (abertura en la semilla por la cual ingresa el agua necesaria para la germinación) (Baskin & Baskin 2014).

Semillas con dormancia combinada (PY + PD) tienen una cubierta seminal o del fruto impermeable al agua y además un embrión fisiológicamente dormante (Baskin et al. 2000; Baskin & Baskin 2003b). La liberación de la dormancia PY + PD es un proceso de dos etapas. En primer lugar, se requiere que la capa impermeable de células en empalizada se vea comprometida para permitir la imbibición de agua hacia el interior de la semilla. En segundo lugar, las semillas deben recibir una señal ambiental para promover suficiente crecimiento del embrión para sobrellevar la restricción de los tejidos circundantes (Baskin & Baskin 2014).

Los embriones de semillas con dormancia morfológica (MD) no se encuentran completamente desarrollados al madurar (subdesarrollados y de pequeño tamaño en comparación con el tamaño del endospermo) y por ende deben crecer o madurar antes de germinar (Baskin & Baskin 2004c; Baskin & Baskin 2014). Los embriones pueden estar indiferenciados (sin una estructura definida; Fig. 3) o subdesarrollados pero diferenciados con estructuras rudimentarias visibles (i.e., radícula y cotiledones; Fig. 4). En semillas con MD, la germinación puede ser particularmente lenta aún bajo condiciones óptimas de germinación, debido al periodo requerido para el desarrollo/crecimiento del embrión previo a la emergencia de la radícula (Baskin & Baskin 2004b; Baskin & Baskin 2004c; Erickson et al. 2016).

Semillas con dormancia morfofisiológica (MPD) poseen embriones subdesarrollados (o indiferenciados) que a la vez están fisiológicamente dormantes, los cuales requieren una señal ambiental para estimular el crecimiento del embrión como precursor para su desarrollo final (Baskin & Baskin 2004b; da Silva et al. 2007). La MPD es una clase compleja de dormancia, que se subdivide a su vez en nueve

niveles que se basan en las condiciones necesarias para el crecimiento del embrión (Baskin & Baskin 2014). El componente fisiológico adicional en este tipo de dormancia, en comparación con MD por sí sola, quiere decir que se requiere significativamente más tiempo para la emergencia de la radícula (Baskin & Baskin 2004c; Scgolten et al. 2009; Baskin & Baskin 2014; Erickson et al. 2016; Dalziell et al. 2018).

Tabla 1. Clases de dormancia, adaptadas de Baskin and Baskin (2014) y Finch-Savage y Leubner-Metzger (2006). Varios géneros incluyen especies con estados inusuales o desconocidos de dormancia que desafían las estrategias conocidas para liberar la dormancia. Esto incluye especies en *Astroloma*, *Leucopogon*, *Cosmelia*, *Epacris* (Ericaceae) con frutos drupáceos; Cyperaceas de tierras áridas, varias Restionaceae australianas; *Boronia* y *Philotheca* (Rutaceae) (Merritt et al. 2007). La tabla no pretende ser una lista exhaustiva y amplia, sino para ejemplificar algunas familias que contienen especies con clases específicas de dormancia.

<i>Clase de dormancia</i>	<i>Características de la semilla</i>	<i>Ejemplos</i>
No dormante (ND)	Las semillas imbiben agua y germinan rápidamente (dentro de 4 semanas) a lo largo del rango más amplio de condiciones medioambientales posible para la especie	Amaranthaceae, Asteraceae, Begoniaceae, Brassicaceae, Bromeliaceae, Dipterocarpaceae, Fagaceae, Lauraceae, Pinaceae, Rubiaceae, Velloziaceae, Xyridaceae
Dormancia fisiológica (PD)	Las semillas imbiben agua y contienen embriones completamente desarrollados con un bajo potencial de crecimiento, a veces en combinación con un impedimento mecánico por parte de las capas que cubren la fruta/semilla	Aceraceae, Amaranthaceae, Asteraceae, Balsaminaceae, Brassicaceae, Byblidaceae, Caryophyllaceae, Commelinaceae, Cucurbitaceae, Cupressaceae, Dioncophyllaceae, Droseraceae, Drosophyllaceae, Ephedraceae, Ericaceae, Euphorbiaceae, Fagaceae, Iridaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Lentibulariaceae, Melastomataceae, Myrtaceae, Nymphaeaceae, Oleaceae, Pinaceae, Plantaginaceae, Poaceae, Rosaceae, Rubiaceae, Rutaceae,

		Sapindaceae, Solanaceae, Ulmaceae, Urticaceae, Violaceae, Vitaceae.D
Dormancia física (PY)	La cubierta seminal o del fruto es impermeable (previniendo la absorción de agua)	Anacardiaceae, Biebersteiniaceae, Bixaceae, Cannaceae, Cistaceae, Convolvulaceae, Cucurbitaceae, Dipterocarpaceae, Fabaceae, Geraniaceae, Lauraceae, Malvaceae, Nelumbonaceae, Rhamnaceae, Sapindaceae, Sarcolanaceae, Sphaerosepalaceae, Surianaceae
Dormancia combinada (PY + PD)	La cubierta seminal o del fruto es impermeable (previniendo la absorción de agua) y además el embrión esta fisiológicamente dormante	Anacardiaceae, Fabnaceae, Geraniaceae, Rhamnaceae, Sapindaceae
Dormancia morfológica (MD)	Las semillas absorben agua fácilmente; sin embargo, el embrión esta subdesarrollado pero diferenciado y requiere tiempo para crecer antes de germinar	Annonaceae, Apiaceae, Arecaceae, Aristolochiaceae, Campanulaceae, Caprifoliaceae, Cycaceae, Gentianaceae, Iridaceae, Lentibulariaceae, Papaveraceae, Ranunculaceae, Rubiaceae, Sarraceniaceae, Vitaceae
Dormancia morfofisiológica (MPD)	Las semillas absorben agua fácilmente, pero contienen embriones que están subdesarrollados y/o indiferenciados y fisiológicamente dormantes	Alliaceae, Annonaceae, Apiaceae, Araliaceae, Ericaceae, Gentianaceae, Ginkgoaceae, Lentibulariaceae, Liliaceae, Magnoliaceae, Papaveraceae, Primulaceae, Ranunculaceae, Taxaceae, Zamiaceae

CICLOS DE DORMANCIA

Las semillas de varias especies con PD o MPD pueden entrar en ciclos entre estados no dormantes y dormantes (Baskin & Baskin 2014; Finch-Savage & Footitt 2017). Este proceso ocurre durante semanas o meses, usualmente en el banco de semillas del suelo. Las semillas de varias especies son capaces de entrar en ciclos estacionales durante varios años antes de que la germinación finalmente ocurra. Los ciclos de dormancia generalmente surgen como respuesta a señales ambientales (ej. cambios en condiciones de luminosidad o temperatura y humedad el suelo), porque estas condiciones se vuelven ya sea favorables (al acercarse a la temporada optima de crecimiento) o desfavorables (al alejarse de la temporada optima de crecimiento) para asistir la germinación (Baskin & Baskin 2004c; Duarte & García 2015). Los ciclos de dormancia también han sido reportados en semillas almacenadas bajo temperaturas y humedades constantes, lo cual sugiere la presencia de un “ritmo endógeno” o un “reloj biológico” dentro de las semillas que es hasta cierto punto independiente de los cambios en condiciones medioambientales (Froud-Williams et al. 1968; Jones et al. 1998; Tieu et al. 2001a). Semillas que se encuentran parcialmente dentro de un ciclo de dormancia, ya sea en vías de volverse completamente dormantes o completamente no dormantes, pueden estar condicionalmente dormantes (Baskin & Baskin 2004b). Estas semillas todavía pueden ser estimuladas para que germinen, pero solo bajo una serie limitada de condiciones (i.e., un rango estrecho de temperaturas) en comparación con semillas a las cuales se les ha quebrado la dormancia (Baskin & Baskin 2014).



Figura 1. Morfología interna de *Ricinocarpos brevis* (Euphorbiaceae), una especie en peligro crítico que produce semillas con dormancia fisiológica y un embrión lineal completamente desarrollado (Imagen: A. Fontaine).



Figura 2. Morfología interna de la semilla de *Adansonia gregorii* (Malvaceae), una especie que produce semillas con un embrión plegado y dormancia física. La capa de células impermeables al agua (en empalizada) está ubicada en el lado exterior de la cubierta seminal, la cual puede ser distinguida con claridad en la imagen, presentándose como una banda más clara justo por debajo de la superficie de

la cubierta seminal. La capa en empalizada en esta especie tiene aproximadamente 150 μM de grosor (Imagen: A. Fontaine).

VARIACIÓN BIOGEOGRÁFICA EN LA DORMANCIA

Debido a que la dormancia está moldeada principalmente por factores medioambientales, no es novedad que estudios hayan demostrado patrones regionales de dormancia en los principales biomas terrestres alrededor del mundo (Baskin & Baskin 2003b; Baskin & Baskin 2014). La dormancia es más común en especies que provienen de regiones con climas poco predecibles y ecológicamente desafiantes o altamente estacionales: el porcentaje de semillas con cierta forma de dormancia varía ca. 50% en bosques tropicales, ca. 57% en bosques tropicales semi-perennes, a más de 90% en desiertos fríos (Baskin & Baskin 2003b; Baskin & Baskin 2014) y ambientes antiguos y climáticamente estables como el sudoeste de Australia (Merritt et al. 2007; pero ver Dayrell et al 2017). Especies con PY son más comunes en ecosistemas con marcadas estaciones húmedas y secas. (ej. Matorrales y fríos desiertos; Rubio de Casas et al. 2017), mientras que especies con embriones subdesarrollados son más comunes en ambientes másicos como bosques perennes de hojas anchas (MD) o bosques deciduos (MPD) (Baskin & Baskin 2014). La PD está bien representada por especies provenientes de todos los biomas, pero diferencias sutiles en las estrategias de germinación pueden ocurrir incluso entre ecosistemas relativamente similares, dependiendo de sus condiciones ambientales. Por ejemplo, especies provenientes de hábitats alpinos y sub-árticos generalmente presentan PD que es quebrada mediante estratificación fría durante el invierno, germinando a principios del verano cuando el riesgo de heladas es mínimo (Niederfriniger Schlag & Erschbamer 2000; Schwienbacher et al. 2011; Marcante et al. 2012; Körner 2013; Bernareggi et al. 2015; Tudela-Isanta et al. 2018a; Tudela-Isanta et al. 2018b). Sin embargo, en poblaciones de la misma especie distribuidas a lo largo de una gradiente medioambiental, los patrones de dormancia y germinación pueden diferir. Por ejemplo, poblaciones en el sub-ártico pueden estar menos dormantes, germinar más rápidamente bajo condiciones óptimas, y pueden tener un rango de temperaturas adecuadas más alto en comparación con poblaciones alpinas (Mondoni et al. 2018). Patrones similares existen en distintas bioregiones (Baskin & Baskin 2014).



Figura 3. Morfología interna de la semilla de *Burchardia congsta* (Colchicaceae), una especie que produce semillas con un embrión pequeño indiferenciado < 1 mm en largo comparado con el resto de la semilla que mide > 2 mm de largo. Esta especie presenta MD (Imagen: A. Fontaine).

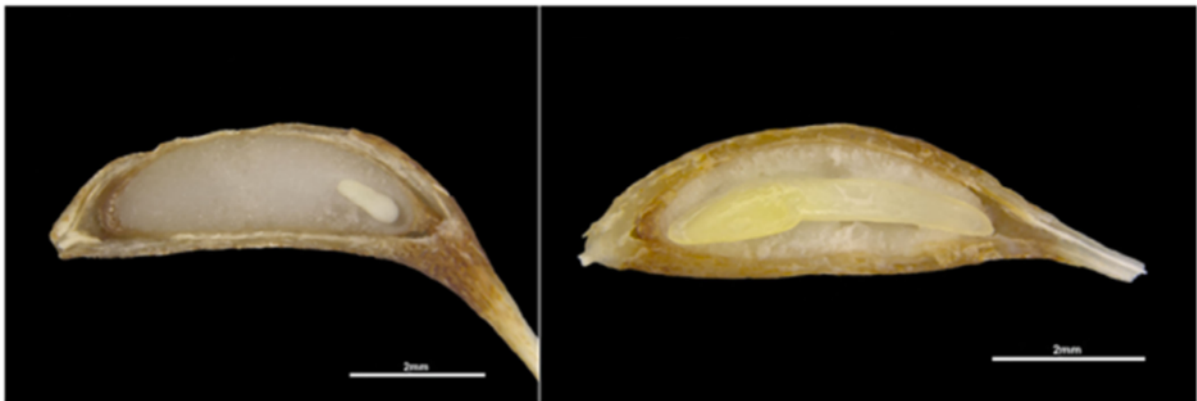


Figura 4. Morfología interna de una semilla morfológicamente dormante (MD) de *Clematis linearifolia* (Ranunculaceae), una especie que produce semillas con un pequeño embrión linear y subdesarrollado (< 1 mm en largo; imagen de la izquierda). Los embriones pueden crecer hasta > 5 mm antes de que ocurra la emergencia de la radícula (imagen de la derecha). El embrión requiere tiempo necesario para crecer antes de germinar, y, como resultado, la ventana de siembra debe tomar en cuenta el periodo requerido por el embrión para alcanzar maduración, lo que solo ocurre bajo condiciones específicas de humedad del suelo y temperatura) (Imagen: A. Fontaine).

VARIACIÓN INTRA E INTER-ESPECIFICA EN LA DORMANCIA

La profundidad de la dormancia (o hasta qué punto la germinación está inhibida debido a la ausencia de condiciones apropiadas para aliviar dormancia) puede variar considerablemente entre familias, género, especies, y entre individuos (Thomas et al. 1979; Langkamp 1987; Baskin & Baskin 2014; Barga et al. 2017; Cross et al. 2018; Seglias et al. 2018). Especies dentro de la misma familia muchas veces poseen diferentes clases de dormancia. Por ejemplo, la familia Rubiaceae contiene especies con semillas que no están dormantes (*Ochreinauclea missionis*; Jose et al. 2002), o que presentan PD (*Gardenia ovularis*; Osunkoya & Swanborough 2001), MD (*Coffea arabica*; da Silva et al. 2004) o MPD (*Amaioua corymbosa*; Sautu et al. 2007). Dentro de una misma especie, las semillas generalmente caen dentro de la misma clase de dormancia, pero la proporción de semillas que han sido inducidas a estar dormantes y la profundidad de esa dormancia puede variar al nivel de población o individuo, como resultado de su biogeografía, factores genéticos, y las condiciones medioambientales experimentadas durante el desarrollo y maduración de la semilla (Andersson & Milberg 1998; Tieu et al. 2001b; Donohue 2009; Bernareggi et al. 2015; Liyanage & Ooi 2015; Liyanage & Ooi 2016). Finalmente, en algunos casos, la proporción de semillas dormantes puede variar dentro de la misma inflorescencia (Baskin & Baskin 2014). Por ejemplo, en especies de la familia Asteraceae, los aquenios producidos por las flores del disco central (tubulares) pueden estar más o menos dormantes que aquellas semillas producidas por las flores periféricas (ligulares) (Marks & Akosim 1984; Brandel 2007).

IDENTIFICACIÓN DE LA DORMANCIA

Las clases de dormancia deben ser correctamente asignadas por los restauradores ya que los tratamientos para quebrar dormancia son específicos para cada clase (Silveira 2013; Erickson et al. 2016; Kildisheva et al. 2018a; Kildisheva 2019). Aplicar un tratamiento erróneo puede resultar, en el mejor de los casos, en el fallo de quebrar dormancia, y en el peor de los casos, en la muerte de semillas. Adicionalmente, si las semillas son sembradas al voleo en el sitio a restaurar, es necesario asegurar que haya suficiente tiempo para que la ruptura de la dormancia sea seguida por humedad y temperatura favorable en el suelo para permitir que la germinación proceda.

Mediante simples experimentos (i.e., examinar la calidad de semillas, germinación, embrión e imbibición) usando materiales de fácil obtención, las semillas de la mayoría de las especies pueden ser fácilmente asignadas a una de las cinco clases de dormancia (Fig. 5 y 6). Esta información es generalmente suficiente para informar y facilitar el correcto manejo de las semillas y la planificación de la restauración. No obstante, en algunos casos complejos, clasificación subsecuente de dormancia en sub-niveles puede ser necesario, siendo más complicado y requiriendo una serie de estudios experimentales (Baskin & Baskin 2004c; Hilhorst et al. 2010; Hilhorst 2011).

Determinación de la calidad de semillas

El llenado y viabilidad de semillas debe ser evaluado antes del inicio de la investigación de dormancia (Dayrell et al. 2017) e, idealmente, en muestras representativas al principio y final de la prueba de germinación. Los métodos para lograr esto incluyen prueba de corte, rayos x (solo llenado), y prueba de tetrazolio (Bonner & Karrfalt 2008; Luna et al. 2009). El porcentaje de semillas llenas, dañadas, sin embrión, o inviables, debe ser reportado para lograr estimaciones precisas del porcentaje de semillas dormantes (Fig. 5; ver Frischie et al. 2020 para más detalles).

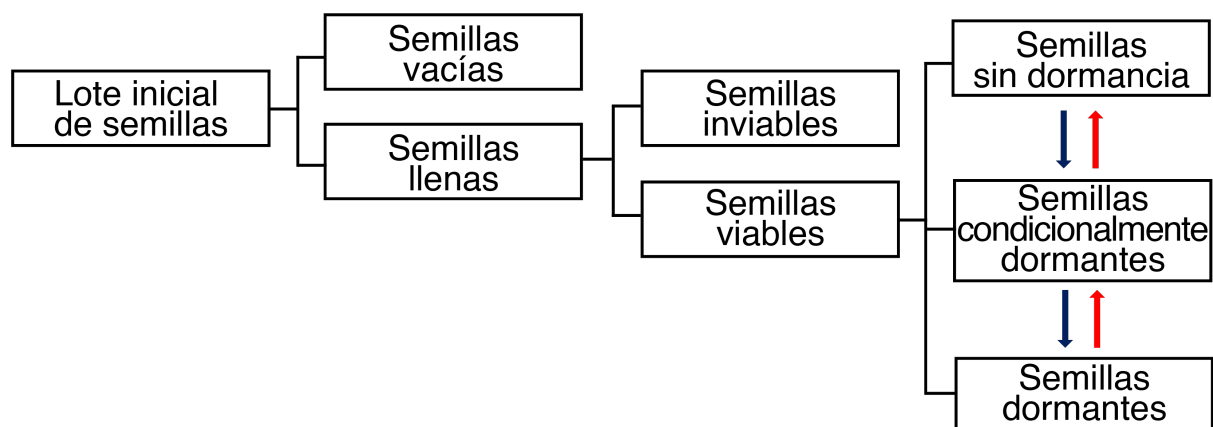


Figura 5. Un marco que delinea factores claves que deben considerarse antes de comenzar la clasificación de dormancia. Factores integrados como semillas vacías (sin embrión) e inviables son descartadas (a diferencia de los estándares “Asociación Internacional para el Análisis de Semillas” (ISTA, por su sigla en inglés) para determinar con exactitud el porcentaje de semillas dormantes. Las

flechas rojas indican el camino de pérdida de dormancia mientras que las flechas azules indican el camino hacia la adquisición de dormancia secundaria (modificado de Baskin & Baskin 2014).

Pruebas de germinación

El siguiente paso para clasificar la dormancia es establecer si las semillas frescas (dentro de dos semanas desde la recolección; Baskin & Baskin 2004a; Baskin & Baskin 2004c; Baskin et al. 2006) germinan rápidamente bajo un amplio rango de condiciones medioambientales (Finch-Savage & Leubner-Metzger 2006). Las semillas deben ser incubadas en un medio neutro (ej. papel filtro húmedo o agar-agar), bajo un amplio rango de temperaturas experimentales que simulen las condiciones naturales del origen de la especie, por al menos 4 semanas. El número de semillas germinadas debe ser contado periódicamente, y la emergencia de la radícula desde la cubierta seminal debe ser usada para determinar la germinación, con un largo de la radícula de al menos 2 mm. Si una gran proporción (> 75%) de las semillas viables germinan en menos de 4 semanas a lo largo de un amplio rango de temperaturas, son como consideradas no dormantes (Erickson et al. 2016). En cambio, si la germinación es baja o no sucede a lo largo del rango de condiciones experimentales usadas, puede que las semillas estén dormantes.

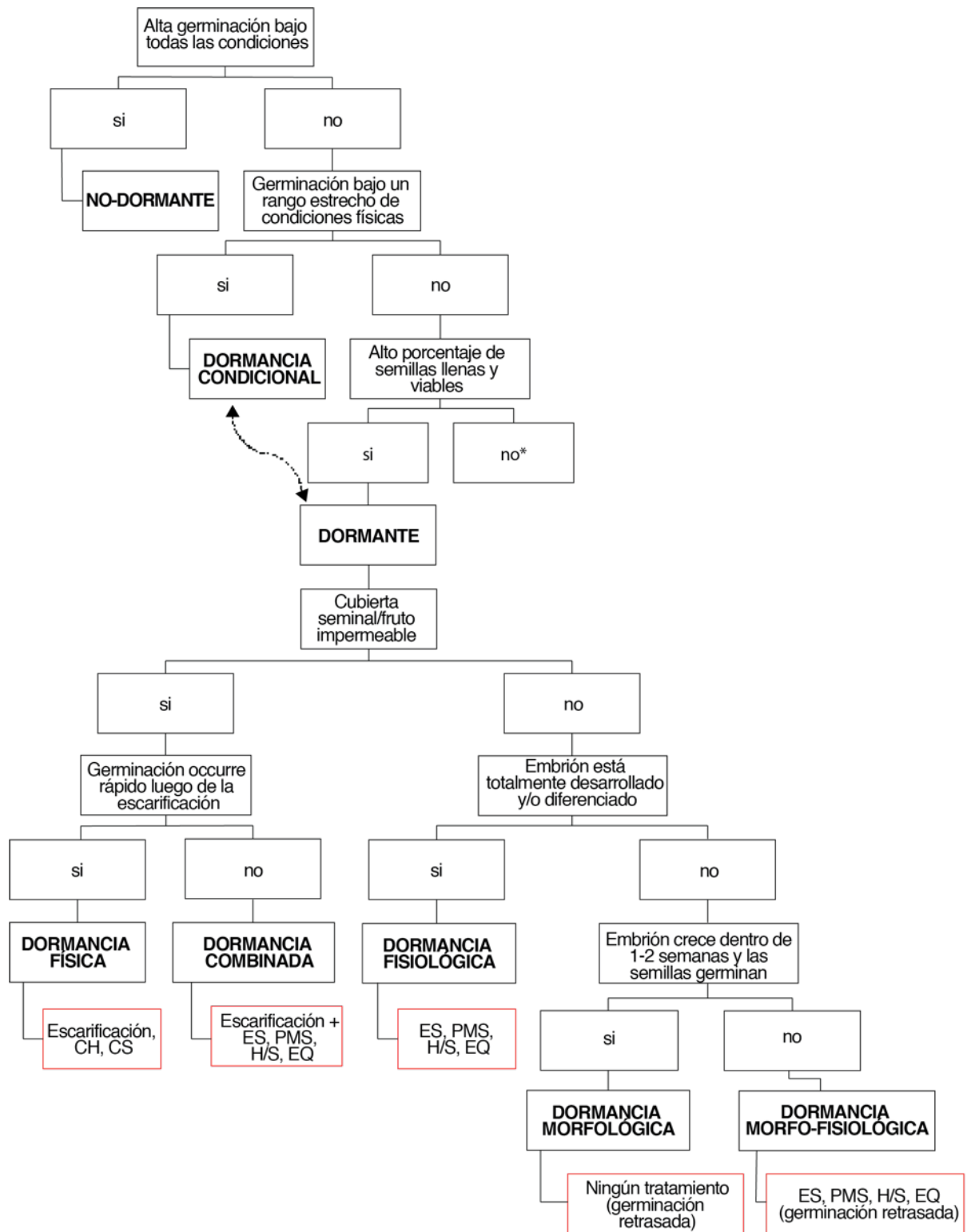


Figura 6. Un árbol de decisión para determinar clases de dormancia siguiendo el sistema de clasificación de Baskin & Baskin (2004c). El primer paso es determinar si las semillas están no dormantes, condicionalmente dormantes, o dormantes. La evaluación de la germinación debe estar basado en un periodo de 4 semanas después de su recolección. Los asteriscos indican problemas con calidad de semillas que imposibilitan la clasificación correcta de dormancia. Subsecuentemente, puede ser necesario determinar las clases de dormancia primaria para entender las acciones apropiadas

necesarias para aliviar dormancia (mostradas en los rectángulos rojos), donde EQ – estimulantes químicos (ej. etileno, ácido giberélico, karrikinolida), PMS – post-maduración seca, CS – calor seco (colocando en un ambiente > 90-100°C), ES – estratificación cálida/fría, H/S – ciclos húmedos/secos, WH – calor húmedo (sumergiendo en agua a 70 – 90° C). Las líneas punteadas indican el potencial de ciclos de dormancia; sin embargo, esto solo se relaciona a semillas con un componente de dormancia fisiológica (dormancia fisiológica, combinatoria, y morfofisiológica).

Prueba de imbibición y escarificación

Si se sospecha la presencia de dormancia, una prueba de imbibición debe llevarse a cabo para determinar la permeabilidad al agua de las capas que cubren la semilla/fruta (Silveria et al. 2012). Las semillas impermeables al agua presentan dormancia física y van a requerir escarificación y una prueba de germinación subsecuente para determinar si la presencia de dormancia fisiológica también está presente. Si las semillas son capaces de absorber agua, pero presentan baja germinación, necesitaran una inspección detallada del desarrollo del embrión. En aquellos casos, embriones completamente desarrollados y/o diferenciados indican dormancia fisiológica (Fig. 6).

En el caso de semillas/frutas impermeables al agua, el monitoreo de la germinación post escarificación será necesario para clasificar si las semillas presentan dormancia física o dormancia combinada (Fig. 6). Semillas con dormancia física germinaran rápidamente y en un alto porcentaje después de ser escarificadas. Si la germinación de las semillas es baja aun después de ser escarificadas, esto implica un bajo potencial de crecimiento del embrión inducido por dormancia fisiológica; aquellas semillas presentan dormancia combinada (física + fisiológica; Baskin & Baskin 2014); Kildisheva et al. 2018a).

Mediciones del embrión

El grado del desarrollo embrionario en semillas maduras puede ayudar aún más a identificar la clase de dormancia. Diseccionar semillas bajo un estereomicroscopio y medir la razón del largo del embrión:semilla (Forbis 2010; Erickson et al 2016), generalmente es suficiente para determinar el estatus del desarrollo embrionario. Si los embriones están subdesarrollados (el largo del embrión aumenta a priori del punto

en que emerge la radícula) y/o indiferenciado (órganos no diferenciados; Fig. 6), entonces el monitoreo periódico del crecimiento del embrión dentro de la semilla (ej. cada unos cuantos días) es necesario (Baskin & Baskin 2014). Si el crecimiento del embrión lleva a la germinación, las semillas presentan dormancia morfológica. Alternativamente, cuando se detecta crecimiento del embrión, pero la germinación permanece baja dentro de 4 a 6 semanas, esto puede indicar la presencia de dormancia morfofisiológica en la semilla (Baskin & Baskin 2014; Erickson et al. 2016).

LIBERACIÓN DE LA DORMANCIA

Determinando el enfoque

En el contexto de la restauración, asumir que el quiebre de la dormancia ocurrirá naturalmente dentro del periodo de tiempo deseado a menudo resulta en la pérdida de semillas y el fracaso de establecimiento (Broadhurst et al. 2016; Erickson et al. 2016; Erickson et al. 2017; Kildisheva 2019). Por ende, quebrar dormancia para promover una germinación más rápida y predecible es generalmente beneficioso, asumiendo que la siembra ocurre en el momento apropiado para mantener la emergencia y sobrevivencia de plántulas.

El proceso para determinar los métodos óptimos para quebrar la dormancia seminal debe basarse en la clase de dormancia y considerar la fenología de la especie tanto como las condiciones ambientales que experimentan las semillas durante su maduración, dispersión, y germinación. Cuando las condiciones ambientales son desconocidas para una población de plantas en particular, bases de datos climáticos como WorldClim (Fick & Hijmans 2017) pueden ser una herramienta útil.

Datos de germinación existentes para la misma especie o especies similares también pueden contribuir señales importantes sobre el comportamiento potencial de la dormancia y requisitos para quebrarla. Por ejemplo, especies con PY son conocidas en un número relativamente limitado (ca. 18) de familias (Tabla 1) y la escarificación de la cubierta impermeable al agua, suele promover la germinación en especies que pertenezcan a alguna de esas familias. Sin embargo, la PD ocurre en un mayor número de taxa y los requisitos necesarios para quebrar la dormancia para estas

especies están estrechamente relacionados con las condiciones ambientales (Willis et al. 2014; Seglias et al. 2018). Información específica para cada especie, aunque limitada, está disponible en la literatura publicada (Baskin & Baskin 2014) y en la 'Seed Information Database' (base de datos de información de semillas) del Real Jardín Botánico, Kew (RBG Kew 2018). Especies relacionadas son útiles de referencia, pero no infalibles, ya que la liberación de dormancia y los requisitos de germinación pueden variar entre familias, género, así como también dentro y entre poblaciones e individuos de la misma especie (Baskin & Baskin 2014).

Cuando existe información limitada para un determinado taxón, o cuando la secuencia de condiciones necesarias para quebrar la dormancia en semillas permeables al agua no está clara, la aproximación 'move-along' puede ser útil (Baskin & Baskin 2003a). Este estudio doble de fenología y germinación es simple de realizar, requiere un número pequeño de semillas, y puede proveer información clave sobre germinación rápidamente.

En el experimento 'move-along', semillas frescas son puestas en placas con agar-agar, papel filtro humedecido, o arena y expuestas a un ciclo de una serie de temperaturas diseñados para replicar condiciones naturales. Para especies de climas templados, estas condiciones representarían la duración típica de las estaciones de primavera, verano, otoño, e invierno. Las muestras son divididas en grupos, algunas comenzando el ciclo con temperaturas de verano y otras con temperaturas de invierno, mientras que las muestras control permanecen en cada temperatura durante toda la duración del experimento (Baskin & Baskin 2003a). El punto dentro del ciclo de temperaturas en el que las semillas dormantes germinan indica si estratificación fría, estratificación cálida, o una secuencia de ambas son necesarias para quebrar la dormancia. Las condiciones utilizadas en el experimento "move-along" pueden ser modificadas para concordar con cualquier bioregión, por ejemplo, para incluir periodos de post-maduración seca, secando y re-humedeciendo, o para ser continuados por ciclos de más de 1 año (Chia et al. 2016; Kildisheva 2019).

Técnicas existentes para aliviar la dormancia

Varias técnicas para aliviar dormancia han sido desarrolladas, donde el tipo de técnica elegida refleja la clase de dormancia y las condiciones ambientales que la semilla experimentaría naturalmente (Tabla 2). Más información está disponible en las láminas de información técnica del Real Jardín Botánico, Kew (Davies et al. 2015a; Davies et al. 2015b). Si bien estas técnicas están bien establecidas en condiciones de laboratorio y viveros, su aplicación en situaciones de terreno y en escalas de restauración no están bien estudiadas (Broadhurst et al. 2016). Algunos tratamientos pueden ser transformados a gran escala (y mecanizados) – escarificar con lija o con una escarificadora neumática, calor húmedo o seco, instrumentos de percusión, o escarificación ácida pueden ser aplicadas a grandes cantidades de semillas para romper PY (Khadduri & Harrington 2002; Kimua & Islam 2012; Mondoni 2013; Hall et al. 2017; Kildisheva et al. 2018b), mientras que flameo rápido, post-maduración seca, compuestos húmicos, ácido giberélico, y otros estimulantes químicos pueden ser aplicados a semillas con PD (Erickson et al. 2016; Guzzomi et al. 2016; Erickson et al. 2017; Hall et al. 2017; Lewandrowski et al. 2017). Entender la escalabilidad de cada técnica de tratamiento es importante para prevenir daños al embrión y asegurar su efectividad. Adicionalmente, la influencia de la liberación de dormancia en el momento de la germinación debe ser adecuadamente considerada para incrementar la probabilidad de supervivencia post germinación.

La reintroducción puede estar planificada para aprovechar oportunidades naturales de quebrar dormancia, por ejemplo, al sembrar en otoño especies que germinan en primavera (Wagner et al. 2011), pero puede que esto no sea suficiente en todos los casos (Kildisheva 2019). Crear múltiples nichos de germinación en distintas fases del proceso de restauración puede ser un alcance efectivo, especialmente en casos donde las condiciones del sitio sean limitantes o impredecibles (Davies et al. 2018). Al quebrar dormancia en tan solo en una porción del lote de semillas sembrado en un sitio, restauradores pueden incorporar ‘bet-hedging’ y asegurar que ocurra algún grado de reclutamiento durante la primera temporada de crecimiento, mientras que el resto de las semillas se mantienen dormantes para un potencial reclutamiento posterior (Kildisheva 2019).

Tabla 2. Resumen de las técnicas más comunes para aliviar dormancia basadas en clase de dormancia

<i>Clase de dormancia</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>Descripción</i>
PY	Escarificación	Cortar (con un bisturí o podadera), lijar, raspar, o remover una porción de la cubierta seminal para permitir la absorción de agua (imbibición), lejos del eje radicular para evitar dañar el embrión.
	Calor seco	Situar semillas en un horno (90 -100°C por hasta 30 minutos, tiempo y temperatura varían entre especies, ver Erickson et al. 2016).
	Calor húmedo	Sumergir semillas en agua caliente (70-90°C desde 30 segundos hasta varios minutos, tiempo y temperatura varían entre especies, ver Erickson et al. 2016).
	Escarificación acida	Sumergir semillas en ácido sulfúrico concentrado por hasta 120 minutos.
	Escarificación percusión	Situar semillas dentro de un contenedor metálico (ajustar el tamaño del contenedor de acuerdo con la distancia de desplazamiento requerido por la semilla dentro del contenedor). Situar en un agitador de pintura industrial y dejar funcionando por 3-20 minutos (ver Khadduri & Harrington 2002, Mondoni et al. 2013).
	Escarificación neumática	Situar semillas dentro de la cámara de escarificación revestida con papel lija u otro material abrasivo (ej. usando un 'Mater Oneumatic Scarifier', PSS2000, OEM, Inc. conectado a un compresor de aire). Ajustar la presión de aire y escarificar semillas por al menos 20 segundos, dependiendo del grosor de la cubierta seminal (ver Kildisheva et al. 2018b).
PD	Estratificación fría	Exponer semillas imbibidas a temperaturas frías (< 10 °C), imitando condiciones invernales.
	Estratificación cálida	Exponer semillas imbibidas a temperaturas cálidas (> 20 °C), imitando condiciones de verano.
	Post-maduración seca	Situar semillas secas en condiciones cálidas y moderadamente húmedas (ej. 50-60% humedad relativa) por varias semanas o meses, imitando una estación seca en la naturaleza).
	Nicking mecánico	Remover una porción de la cubierta seminal cerca del ápice de la raíz.
	Flameo rápido	Situar semillas en un tambor rotativo que emita una llama de fuego directa por varios segundos (ver Guzzomi et al. 2016); la

		distancia de la llama y el tiempo de procesamiento varía entre especies.
	Estimulantes del crecimiento químicos	Usar químicos como nitrato de potasio (KNO ₃), ácido giberélico (GA ₃), o soluciones ahumadas (ej. KAR ₁ o agua ahumada) para estimular germinación (ver Baskin & Baskin 2014; Erickson et al. 2016).
PY + PD	Combinación de los tratamientos anteriores	Aplicar múltiples tratamientos para liberar dormancia física y fisiológica.
MD	Proveer condiciones para el desarrollo del embrión	Situar semillas imbibidas a una temperatura adecuada por 4 semanas, usando como guía las condiciones medioambientales naturales en el momento y sitio de dispersión.
MPD	Combinación de tratamientos PD y MD	Usar condiciones medioambientales como guía para determinar los ciclos de temperaturas requeridos para el desarrollo del embrión y también para la liberación de la dormancia fisiológica.

Calificación y reporte del estado de dormancia y tratamientos para quebrarla

Para asegurar que los resultados de la restauración cumplan con sus objetivos y estándares de calidad, es importante mantener registros fidedignos del estatus de dormancia y sus requisitos de germinación a lo largo de los lotes de semillas usando métodos y criterios estandarizados (Silveria 2013; Frischie et al. 2020). Como un mínimo, la siguiente información debe ser reportada para cada lote de semilla:

- *Descripción del sitio de colecta*, incluyendo coordenadas geográficas, tipo de suelo, y comunidad vegetal
- *Información de la colecta*, incluyendo la fecha de recolección de semillas, el número de frutos muestreados por individuo, el número de individuos muestreados, una estimación del tamaño de la población, y la estrategia de muestreo la fecha de la colecta de semillas
- *Información sobre la limpieza y calidad de semillas*, incluyendo técnicas utilizadas para la limpieza de semillas, el porcentaje de semillas llenas, y el número de semilla viables
- *Datos de ensayos de dormancia*, incluyendo resultados de ensayos de imbibición, las condiciones medioambientales específicas, la duración de los

experimentos de germinación, detalles sobre tratamientos pre-siembra, y resultados de germinación

CONCLUSIÓN

El éxito de los esfuerzos para restaurar a base de semillas depende de la habilidad de los restauradores para predecir con precisión los requisitos de germinación y asegurar que éstos sean cumplidos mediante condiciones naturales en el sitio a restaurar o mediante tratamientos pre-siembra apropiados. Una comprensión detallada de la calidad, estado de dormancia, y requisitos de germinación de las semillas sembradas es, por lo tanto, esencial. Esta información puede ser fácilmente obtenida para cada accesión de semillas mediante la evaluación de la calidad de las semillas y su clasificación de dormancia, siguiendo una serie de pasos estándares para muestrear semillas. Registros precisos que incluyan información respecto de la recolección, calidad, limpieza, almacenamiento, y dormancia para cada lote de semillas (mantenidos desde la recolección de las semillas hasta su uso) son igualmente críticos para asegurar el éxito de la restauración. Las pautas sobre germinación y dormancia detalladas en este artículo deben ser un componente estándar de cualquier proceso de planificación de restauración a base de semillas y deben ser consideradas en conjunto con los “Principios internacionales y estándares para semillas nativas en restauración” (Pedrini & Dixon 2020).

LITERATURA CITADA

- Andersson L, Milberg P (1998) Variation in seed dormancy among mother plants, populations and years of seed collection. *Seed Science Research* 8:29–38
- Barga S, Dilts TE, Leger EA (2017) Climate variability affects the germination strategies exhibited by arid land plants. *Oecologia* 185:437–452
- Baskin CC, Baskin JM (2003a) When breaking seed dormancy is a problem try a move-along experiment. *Native Plants Journal* 4:17–2
- Baskin JM, Baskin CC (2003b) Classification, biogeography, and phylogenetic relationships of seed dormancy. Pages 517–544. In: Smith RD, Dickie JB, Linington SH, Pritchard HW, Probert RJ (eds) *Seed conservation: turning science into practice*. The Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, UK

- Baskin CC, Baskin JM (2004a) Determining dormancy-breaking and germination requirements from the fewest seeds. Pages 162–179. In: Guerrant EO Jr, Havens K, Maunder M (eds) *Ex situ plant conservation: supporting species survival in the wild*. Island Press, Washington D.C.
- Baskin CC, Baskin JM (2004b) Germinating seeds of wildflowers, an ecological perspective. *HortTechnology* 14:467–473
- Baskin JM, Baskin CC (2004c) A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research* 14:1–16
- Baskin CC, Baskin JM (2014) *Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. 2nd edition. Elsevier, Academic Press, San Diego, CA
- Baskin JM, Baskin CC, Li X (2000) Taxonomy, anatomy and evolution of physical dormancy in seeds. *Plant Species Biology* 15:139–152
- Baskin CC, Thompson K, Baskin JM (2006) Mistakes in germination ecology and how to avoid them. *Seed Science Research* 16:165–168
- Bernareggi G, Carbognani M, Petraglia A, Mondoni A (2015) Climate warming could increase seed longevity of alpine snowbed plants. *Alpine Botany* 125:69–78
- Bonner FT, Karrfalt RP (2008) *The woody plant seed manual*. Agricultural handbook No. 727. U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Washington D.C.
- Brandel M (2007) Ecology of achene dimorphism in *Leontodon saxatilis*. *Annals of Botany* 100:1189–1197
- Broadhurst LM, Jones TA, Smith FS, North T, Guja L (2016) Maximizing seed resources for restoration in an uncertain future. *Bioscience* 66:73–79
- Chia KA, Sadler R, Turner SR, Baskin CC (2016) Identification of the seasonal conditions required for dormancy break of *Persoonia longifolia* (Proteaceae), a species with a woody indehiscent endocarp. *Annals of Botany* 118:331–346
- Commander LE, Rokich DP, Renton M, Dixon KW, Merritt DJ (2013) Optimising seed broadcasting and greenstock planting for restoration in the Australian arid zone. *Journal of Arid Environments* 88:226–235
- Cross AT, Paniw M, Scatigna AV, Kalfas N, Anderson B, Givnish TJ, Fleischmann A (2018) Systematics and evolution of small genera of carnivorous plants. Pages 120–134. In: Ellison AM, Adamec L (eds) *Carnivorous plants: physiology, ecology, and evolution*. Oxford University Press, Oxford, UK

- Dalziell E, Erickson T, Hidayati S, Walck J, Merritt D (2018) Alleviation of morphophysiological dormancy in seeds of the Australian arid-zone endemic shrub, *Hibbertia glaberrima* F. Muell. (Dilleniaceae). *Seed Science Research* 28:286–293
- Davies R, Di Sacco A, Newton R (2015a) Germination testing: environmental factors and dormancy-breaking treatments. Technical Information Sheet 13b. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, UK. <http://brahmsonline.kew.org/Content/Projects/msbp/resources/Training/13b-Germination-testing-dormancy.pdf>
- Davies R, Di Sacco A, Newton R (2015b) Germination testing: procedures and evaluation. Technical Information Sheet 13a. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, UK. <http://brahmsonline.kew.org/Content/Projects/msbp/resources/Training/13a-Germination-testing-procedures.pdf>
- Davies KW, Boyd CS, Madsen MD, Kerby J, Hulet A (2018) Evaluating a seed technology for sagebrush restoration across an elevation gradient: support for bet-hedging. *Rangeland Ecology and Management*. 71:19–24
- Dayrell RLC, Garcia QS, Negreiros D, Baskin CC, Baskin JM, Silveira FAO (2017) Phylogeny strongly drives seed dormancy and quality in a climatically buffered hotspot for plant endemism. *Annals of Botany* 119:267–277
- Donohue K (2009) Completing the cycle: maternal effects as the missing link in plant life histories. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B Biological Sciences* 364:1059–1074
- Duarte DM, Garcia QS (2015) Interactions between substrate temperature and humidity in signalling cyclical dormancy in seeds of two perennial tropical species. *Seed Science Research* 25:170–178
- Ellison AM (2001) Interspecific and intraspecific variation in seed size and germination requirements of *Sarracenia* (Sarraceniaceae). *American Journal of Botany* 88:429–437
- Erickson TE, Barrett RL, Merritt DJ, Dixon KW (2016) Pilbara seed atlas and field guide: plant restoration in Australia's arid northwest. CSIRO Publishing, Dickson, Australian Capital Territory, Australia

- Erickson TE, Muñoz-Rojas M, Kildisheva OA, Stokes BA, White SA, Heyes JL, et al. (2017) Benefits of adopting seed-based technologies for rehabilitation in the mining sector: a Pilbara perspective. *Australian Journal of Botany* 65:646–660
- Fick SE, Hijmans RJ (2017) WorldClim 2: new 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* 37:4302–4315
- Finch-Savage WE, Footitt S (2017) Seed dormancy cycling and the regulation of dormancy mechanisms to time germination in variable field environments. *Journal of Experimental Botany* 68:843–856
- Finch-Savage WE, Leubner-Metzger G (2006) Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist* 171:501–523
- Forbis TA (2010) Germination phenology of some Great Basin native annual forb species. *Plant Species Biology* 25:221–230
- Frischie S, Miller A, Kildisheva OA, Pedrini S (2020) Native seed processing and quality testing. *Restoration Ecology* 28: S255–S264
- Froud-Williams RJ, Hilton JR, Dixon J (1986) Evidence for an endogenous cycle of dormancy in dry stored seeds of *Poa trivialis* L. *New Phytologist* 102:123–131
- Gama-Arachchige NS, Baskin JM, Geneve RL, Baskin CC (2013) Identification and characterization of ten new water-gaps in seeds and fruits with physical dormancy and classification of water-gap complexes. *Annals of Botany* 112:69–84
- Guzzomi AL, Erickson TE, Ling KY, Dixon KW, Merritt DJ (2016) Flash flaming effectively removes appendages and improves the seed coating potential of grass florets. *Restoration Ecology* 24: S98–S105
- Hall SA, Newton RJ, Holmes PM, Gaertner M, Esler KJ (2017) Heat and smoke pre-treatment of seeds to improve restoration of an endangered Mediterranean climate vegetation type. *Austral Ecology* 42:354–366
- Hilhorst HWM (2011) Standardizing seed dormancy research. Pages 43–52. In: Kermode A (ed) *Seed dormancy: methods and protocols*. Humana Press, Totova, NJ
- Hilhorst HWM, Finch-Savage WE, Buitink J, Bolingue W, Leubner-Metzger G (2010) Dormancy in plant seeds. *Topics in Current Genetics* 21:43–67
- ISTA (2020) *International rules for seed testing*. International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland
- James JJ, Svejcar TJ, Rinella MJ (2011) Demographic processes limiting seedling recruitment in arid grassland restoration. *Journal of Applied Ecology* 48:961–969

- James JJ, Sheley RL, Erickson T, Rollins KS, Taylor MH, Dixon KW (2013) A systems approach to restoring degraded drylands. *Journal of Applied Ecology* 50:730–739
- Jones SK, Gosling PG, Ellis RH (1998) Reimposition of conditional dormancy during air-dry storage of prechilled Sitka spruce seeds. *Seed Science Research* 8:113–122
- Jose P, Pandurangan A, Thomas J, Pushpangadan P (2002) Seed storage studies on *Ochreinauclea missionis* (Wall. ex G. Don) Ridsd. – an endemic tree of Western Ghats. *Seed Research* 30:275–278
- Khadduri NY, Harrington JT (2002) Shaken, not stirred—a percussion scarification technique. *Native Plants Journal* 3:65–66
- Kildisheva OA (2019) Improving the outcomes of seed-based restoration in cold and hot deserts: an investigation into seed dormancy, germination, and seed enhancement. PhD Dissertation, University of Western Australia, Perth. <https://doi.org/10.26182/5caea3c9861f2>
- Kildisheva OA, Erickson TE, Madsen MD, Dixon KW, Merritt DJ (2018a) Seed germination and dormancy traits of forbs and shrubs important for restoration of North American dryland ecosystems. *Plant Biology* 21:458–469.
- Kildisheva OA, Erickson TE, Merritt DJ, Madsen MD, Dixon KW, Vargas J, Amarteifio R, Kramer AT (2018b) Do abrasion- or temperature-based techniques more effectively relieve physical dormancy in seeds of cold desert perennials? *Rangeland Ecology & Management* 71:318–322
- Kimura E, Islam M (2012) Seed scarification methods and their use in forage legumes. *Research Journal of Seed Science* 5:38–50
- Körner C (2013) *Alpine plant life: functional plant ecology of high mountain ecosystems*. Springer, Berlin, Germany
- Ladouceur E, Jiménez-Alfaro B, Marin M, De Vitis M, Abbandonato H, Iannetta PP, Bonomi C, Pritchard HW (2018) Native seed supply and the restoration species pool. *Conservation Letters* 11:e12381
- Langkamp PJ (1987) In: Langkamp P (ed) *Germination of Australian native plant seed*. Inkata Press, Melbourne, Australia
- Lewandrowski W, Erickson TE, Dixon KW, Stevens JC (2017) Increasing the germination envelope under water stress improves seedling emergence in two dominant grass species across different pulse rainfall events. *Journal of Applied Ecology* 54:997–1007

- Liyanage GS, Ooi MKJ (2015) Intra-population level variation in thresholds for physical dormancy-breaking temperature. *Annals of Botany* 116:123–131
- Liyanage GS, Ooi MKJ (2016) Do dormancy-breaking temperature thresholds change as seeds age in the soil seed bank? *Seed Science Research* 27:1–11
- Luna T, Wilkinson K, Dumroese RK (2009) Seed germination and sowing options. Pages 133–151. In: Dumroese RK, Luna T, Landis TD (eds) *Nursery manual for native plants: a guide for tribal nurseries*. Vol. 1: Nursery management. Agriculture Handbook 730. U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Washington D.C.
- Marcante S, Sierra-Almeida A, Spindelböck JP, Erschbamer B, Neuner G (2012) Frost as a limiting factor for recruitment and establishment of early development stages in an alpine glacier foreland? *Journal of Vegetation Science* 23:858–868
- Marks MK, Akosim C (1984) Achene dimorphism and germination in three composite weeds. *Tropical Agriculture* 61:69–73
- Merritt DJ, Dixon KW (2011) Restoration seed banks—a matter of scale. *Science* 332(6,028):424–425
- Merritt DJ, Turner SR, Clarke S, Dixon KW (2007) Seed dormancy and germination stimulation syndromes for Australian temperate species. *Australian Journal of Botany* 55:336–344
- Miller BP, Sinclair EA, Menz MHM, Elliott CP, Bunn E, Commander LE, et al. (2017) A framework for the practical science necessary to restore sustainable, resilient, and biodiverse ecosystems. *Restoration Ecology* 25:605–617
- Mondoni A (2013) Percussion as an effective seed treatment for herbaceous legumes (Fabaceae): implications for habitat restoration and agriculture. *Seed Science and Technology* 41:175–187
- Mondoni A, Orsenigo S, Müller J, Carlsson-Graner U, Jiménez-Alfaro B, Abeli T (2018) Seed dormancy and longevity in subarctic and alpine populations of *Silene suecica*. *Alpine Botany* 128:71–81
- Niederfriniger Schlag R, Erschbamer B (2000) Germination and establishment of seedlings on a glacier foreland in the Central Alps, Austria. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research* 32:270–277
- Osunkoya OO, Swanborough PW (2001) Reproductive and ecophysiological attributes of the rare *Gardenia actinocarpa* (Rubiaceae) compared with its common co-occurring congener, *G. ovularis*. *Australian Journal of Botany* 49:471–478

- Pedrini S, Dixon KW (2020) International principles and standards for native seeds in restoration. *Restoration Ecology* 28:S285–S302
- RBG Kew (2018) Seed Information Database (SID). Version 7.1. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, UK. <http://data.kew.org/sid/>.
- Rubio de Casas R, Willis CG, Pearse WD, Baskin CC, Baskin JM, Cavender-Bares J (2017) Global biogeography of seed dormancy is determined by seasonality and seed size: a case study in the legumes. *New Phytologist* 214:1527–1536
- Sautu A, Baskin JM, Baskin CC, Deago J, Condit R (2007) Classification and ecological relationships of seed dormancy in a seasonal moist tropical forest, Panama, Central America. *Seed Science Research* 17:127–140
- Scholten M, Donahue J, Shaw NL, Serpe MD (2009) Environmental regulation of dormancy loss in seeds of *Lomatium dissectum* (Apiaceae). *Annals of Botany* 103:1091–1101
- Schwienbacher E, Navarro-Cano JA, Neuner G, Erschbamer B (2011) Seed dormancy in alpine species. *Flora* 206:845–856
- Seglias AE, Williams E, Bilge A, Kramer AT (2018) Phylogeny and source climate impact seed dormancy and germination of restoration-relevant forb species. *PLoS One* 13:e0191931
- da Silva E, Toorop P, van Aelst A, Hilhorst H (2004) Abscisic acid controls embryo growth potential and endosperm cap weakening during coffee (*Coffea arabica* cv. Rubi) seed germination. *Planta* 220:251–261
- da Silva EAA, de Melo DLB, Davide AC, de Bode N, Abreu GB, Faria JMR, Hilhorst HWM (2007) Germination ecophysiology of *Annona crassiflora* seeds. *Annals of Botany* 99:823–830
- Silveira FAO (2013) Sowing seeds for the future: the need for establishing protocols for the study of seed dormancy. *Acta Botanica Brasilica* 27:264–269
- Silveira FAO, Ribeiro R, Oliveira D, Fernandes G, Lemos-Filho JP (2012) Evolution of physiological dormancy multiple times in Melastomataceae from Neotropical montane vegetation. *Seed Science Research* 22:37–44
- Thomas TH, Biddington NL, O'Toole DF (1979) Relationship between position on the parent plant and dormancy characteristics of seeds of three cultivars of celery (*Apium graveolens*). *Physiologia Plantarum* 45:492–496

- Tieu A, Dixon KW, Meney KA, Sivasithamparam K (2001a) Interaction of soil burial and smoke on germination patterns in seeds of selected Australian native plants. *Seed Science Research* 11:69–76
- Tieu A, Dixon KW, Meney KA, Sivasithamparam K, Barrett RL (2001b) Spatial and developmental variation in seed dormancy characteristics in the fire-responsive species *Anigozanthos manglesii* (Haemodoraceae) from Western Australia. *Annals of Botany* 88:19–26
- Tudela-Isanta M, Ladouceur E, Wijayasinghe M, Pritchard H, Mondoni A (2018a) The seed germination niche limits the distribution of some plant species in calcareous or siliceous alpine bedrocks. *Alpine Botany* 128:83–95
- Tudela-Isanta M, Fernández-Pascual E, Wijayasinghe M, Orsenigo S, Rossi G, Pritchard HW, Mondoni A (2018b) Habitat-related seed germination traits in alpine habitats. *Ecology and Evolution* 8:150–161
- Turner SR, Steadman KJ, Vlahos S, Koch JM, Dixon KW (2013) Seed treatment optimizes benefits of seed bank storage for restoration-ready seeds: the feasibility of prestorage dormancy alleviation for mine-site revegetation. *Restoration Ecology* 21:186–192
- Wagner M, Pywell RF, Knopp T, Bullock JM, Heard MS (2011) The germination niches of grassland species targeted for restoration: effects of seed pre-treatments. *Seed Science Research* 21:117–131
- Willis CG, Baskin CC, Baskin JM, Auld JR, Venable DL, Cavender-Bares J, Donohue K, Rubio de Casas R (2014) The evolution of seed dormancy: environmental cues, evolutionary hubs, and diversification of the seed plants. *New Phytologist* 203:300–309