

# UN NUEVO MÉTODO PARA LA GERMINACIÓN DE *Nothofagus alpina* (Poepp. et Endl) Oerst., RAULÍ. Ximena Calderón-Valtierra, A. Vega y C. Salazar, Biólogos, Departamento Ciencias Biológicas, Universidad de Talca. Casilla 747 Talca.

## RESUMEN

*En este trabajo se presenta un nuevo y sencillo método que reduce a 10 días el proceso germinativo de raulí. Se demuestra también que el contenido de fenoles de la cubierta externa de las semillas, al parecer del tipo saponinas, determinaría el prolongado tiempo de estratificación que se requiere para romper la latencia. Con la lixiviación gradual de estos compuestos, se incrementa en forma sostenida el porcentaje de germinación hasta valores superiores al 90%.*

*La simplicidad del método y el reducido costo de los implementos hacen aconsejable su aplicación, sustituyendo así a la tradicionalmente recomendada técnica de estratificación.*

**Palabras claves:** Fenoles, Estratificación, Lixiviación, Germinación, Raulí.

## ABSTRACT

*A new and simple method is presented in this article, in which the germination process of "Raulí", is reduced to 10 days. It is also proved the phenol content of the external covert of the seeds, it seems that the long time of stratification would be determined by the kind of saponins, when it is used the breakage latence method. With the gradual lixiviation of the components, the germination percentage increases over 90%.*

*The simplicity of the method and the lower cost are enough reasons to support the application, instead of the traditional method of stratification.*

**Key Words:** Phenols, Stratification, Lixiviation, Germination, Raulí

## INTRODUCCIÓN

Para lograr una efectiva respuesta en la germinación de *Nothofagus alpina* (Poepp. et Endl.) Oerst., raulí, tradicionalmente se ha recomendado que las semillas sean sometidas a un proceso de estratificación durante 2 a 3 meses (Kummerow y Labarca 1961, Bourke 1987, Santelices 1993, Mesa y Rotella 1994). Si bien esta técnica asegura resultados exitosos, tiene como desventaja la espera de un largo período de tiempo para disponer de las plantas necesarias. Hasta ahora no se conocen los factores que obligan a un período de estratificación tan prolongado.

## OBJETIVOS

En el trabajo se propone una técnica para reducir significativamente el período de germinación de *N. alpina* y, a la vez, se presentan los resultados de laboratorio que evidencian el rol inhibitorio de algunos compuestos fenólicos en el retardo y lentitud del proceso germinativo.

## MATERIAL Y MÉTODO

El trabajo comprende la secuencia de las siguientes etapas:

- Colecta de semillas. En febrero de 1992, en el sector Caserío de Atacalco ( VIII Región, 650 msnm, Lat. 36° 53' y Long. 71° 38'), se cosecharon semillas de raulí que fueron almacenadas en laboratorio dentro de frascos de vidrio durante un año.
- Selección y germinación. Por medio de la técnica de flotación (Donoso 1975) se seleccionaron 10 grupos, con 300 semillas viables cada uno, los cuales se sometieron durante 5 minutos, por agitación, a una esterilización superficial con cloro comercial (100%). Posterior a tres o cuatro lavados en agua destilada estéril, se mantienen durante 10 días con nueva agua en un agitador orbital a 100 rpm y 22 °C de temperatura ambiental. Durante este período, diariamente y en cada grupo de semillas se realiza un recambio del agua.
- Determinación de fenoles totales. La cuantificación de los fenoles totales se realiza mediante el método de Foling-Cicaulteu (Greenberg et al, 1992) y con el agua de recambio diario de cada una de las muestras. Por cada muestra se toman 100 ul que son diluidos en 20 ml de agua destilada. Posteriormente, a 1 ml de cada dilución, se le agregan 20 ul del reactivo Foling y 200 ul de tartrato de sodio ( $\text{Na}_2 \text{CO}_3$ ) dejándose en reposo durante 20 minutos. Luego, en una alícuota, con ocho repeticiones por muestra, se procede a la lectura de la Densidad Óptica (D.O.) en un espectrofotómetro Shimadzu UV-160 A a 700 nm de longitud de onda. La

concentración de los fenoles totales se determina por interpolación de las lecturas en una curva de calibración, la cual se ha construido con fenol puro en concentraciones de 0 a 0,5 ppm.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La metodología descrita permite reducir sustancialmente los plazos de la germinación de raulí. El proceso se inicia a los 3 a 6 días en el agua estéril pur, para completarse a los 10 días de tratamiento (Cuadro, N°1). Durante el ensayo se encontraron también semillas que no germinan, para las cuales, bajo un examen con lupa estereoscópica, se determinó que carecían de embriones, a pesar de haber pasado la prueba de flotación.

Cuadro N° 1

**PORCENTAJE DE GERMINACIÓN DE LA SEMILLAS DE RAULÍ Y CONCENTRACIÓN DE FENOLES EXTRAÍBLES PARA 10 DÍAS EN AGITACIÓN CON AGUA DESTILADA ESTÉRIL**

Tiempo (días)	Germinación (%)	Fenoles (mg/l)
1	0	0,8822
2	0	0,7814
3	2	0,6929
4	3	0,4799
5	6	0,3693
6	8	0,3199
7	18	0,292
8	45	0,193
9	80	0,069
10	98	0,05

En los dos primeros días la germinación es nula en todos los grupos tratados. Esta situación es coincidente con una concentración inicial alta de los fenoles totales 0,8822 mg/l para el primer día y 0,7814 mg/l para el segundo. Es claro que, después de 24 horas y posterior al primer lavado, se inicia la remoción de los compuestos con una caída de 0,1008 mg/l (Cuadro N° 1). Sin embargo, después de 72 horas y cuando su disminución alcanza niveles de 0,4799 mg/l, algunas semillas inician la emergencia radicular. Con el transcurso del lavado y recambio diario de agua se observa que junto con incrementarse el porcentaje de germinación, disminuye también el contenido de los fenoles. El valor máximo de germinación (98%) se alcanza el 10° día de tratamiento (Cuadro N°1). Este resultado coincide también con una caída de un 94,3% (0,8322 mg/l) en la concentración de los fenoles, respecto al contenido del inicio de la experiencia (Figura N° 1).

Los resultados de laboratorio demuestran claramente que la agitación en un ambiente de temperatura moderada, favorece la remoción gradual de los compuestos extraíbles de la cubierta seminal, los cuales determinarían la prolongada latencia de las semillas de raulí. Cuando estas semillas son tratadas, como hasta ahora se ha recomendado, con la técnica de la estratificación durante 60 a 90 días, esta remoción ocurre con lentitud en un ambiente frío y húmedo. Los compuestos fenólicos, probablemente, corresponderán al grupo de saponinas, ya que con el lavado y fríega manual de las semillas, se origina una película blanca y superficial tipo espuma. La etapa siguiente de la experiencia estará centrada en la búsqueda y determinación de la naturaleza química específica de esta sustancia.

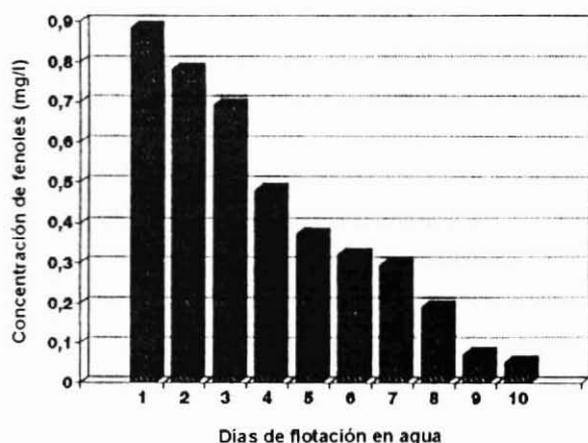


Figura N° 1. HISTOGRAMA DE LA VARIACIÓN DIARIA DEL CONTENIDO DE FENOLES DE LAS SEMILLAS DE RAULÍ PARA 10 DÍAS DE FLOTACIÓN EN AGUA DESTILADA ESTÉRIL

## CONCLUSIÓN

El método descrito, frente a la estratificación, presenta ventajas como su fácil aplicación por la simplicidad de equipo y bajo costo de mismo, reducción significativa del período de germinación, posibilidad de tratamiento masivo de semillas, seguridad de un alto porcentaje de germinación y facilidad de seguimiento y control directo del proceso.

## RECONOCIMIENTO

Esta investigación fue iniciada con fondos del proyecto FONDECYT 91-0195

**REFERENCIAS**

- Bourke, Michael., 1987.** Germinación de Raulí Bajo Diferentes Temperaturas. *Ciencia e Investigación Forestal* 1(1): 57-65.
- Donoso, C., 1975.** Aspectos de la Fenología y Germinación de las Especies de *Nothofagus* de la Zona Mesomórfica. Santiago, Chile, U. de Chile, Facultad de Ciencias Forestales, Bol. Tec. N°34, 23 pp.
- Greenberg, Arnold E., Clesceri, Lenore S. & Eaton, Andrew D. Eds., 1992.** "Zannin and Lignin, Method Colorimetric". In *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Parte 5550 pp 5.41 - 5.42
- Mesa, A. y Rotella A., 1994.** Morfología Comparada de Plántulas de Especies Chilenas de *Nothofagus* (Fagaceae). *Ann. Mus. Hist. Nat. Valparaiso* 22:41-48.
- Santelices, R., 1993.** Propagación Vegetativa de Raulí, Roble y Coihue a partir de Estacas. *Ciencia e Investigación Forestal* 7(1): 37-48
- Kummerow, J. & Labarca, C., 1961.** Estudios sobre el Fruto y la Semilla de *Nothofagus alpina* (Poepp et Endl.) Krasser. *FITON* 17(2):205-210.
- Von Arnold, S. & Erickson T., 1981.** In Vitro Studies of Adventitious Shoot Formation in *Pinus contorta*. *Can. J. Bot.* 59:870-874.