



**UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA**

ESTUDIOS DE GERMINACIÓN EN GEUM QUELLYON

MEMORIA DE TÍTULO

MARÍA PÍA GUZMÁN VEGA

TALCA-CHILE

2007

**UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA**

"ESTUDIOS DE GERMINACION EN *GEUM QUELLYON*"

por

MARIA PIA GUZMAN VEGA

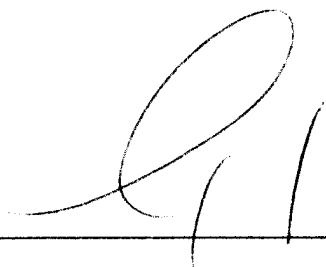
MEMORIA DE TITULO

presentada a la
Universidad de Talca como
parte de los requisitos para optar al título de

INGENIERO AGRONOMO

TALCA, 2007

APROBACION:



Profesor Guía: Ing. Agr. Dr. Hermine Vogel
Profesora de la Escuela de Agronomía
Facultad de Ciencias Agrarias
Universidad de Talca



Profesor Informante: Ing. Agr. M.S. Flavia Schiappacasse
Profesora de la Escuela de Agronomía
Facultad de Ciencias Agrarias
Universidad de Talca

Presentación Defensa de Memoria: 19 de Enero de 2007.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres Pedro y María Elena pilares fundamentales de mi vida, les doy infinitas gracias por todo ese amor e incondicional apoyo, con el cual sé que podré contar más allá de las fronteras físicas que puedan separarnos. Gracias por sus enseñanzas de esfuerzo, perseverancia y superación, valores que me han forjado como persona y ayudado a alcanzar las metas en mi vida. A mis hermanos María Paz y Diego, gracias por su cariño y apoyo.

La amistad es una bendición y por tal motivo no puedo dejar de mencionar a mis amigos, a los cuales agradezco por estar siempre conmigo en las buenas y malas, de verdad que su amistad fue un gran apoyo en este proceso. En especial debo agradecer a María Cecilia y Manuel, gracias por poder contar siempre con ustedes.

Finalmente agradezco a mi profesora guía Sra. Hermine Vogel, profesora informante Sra. Flavia Schiappacasse y Srta. Benita González por su paciencia y gran apoyo en la realización de este trabajo.

RESUMEN

Geum quellyon (Hierba del Clavo), es una planta nativa perteneciente a la flora chilena ancestralmente utilizada por los Mapuches como planta medicinal. En la actualidad su uso se ha extendido a la población chilena en general. Se recolecta la raíz en los sectores cordilleranos entre Aconcagua y Magallanes.

Con el objetivo de estudiar la germinación de *Geum quellyon* y el efecto de diferentes tratamientos pregerminativos sobre la emergencia de la semilla, se realizaron tres estudios, entre los meses de Noviembre y Diciembre de 2006 en las dependencias del Laboratorio de Hortalizas perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Talca.

La viabilidad de las semillas de *Geum quellyon* fue determinada mediante el test topográfico del tetrazolio. Se realizó un experimento preliminar de germinación consistente en hacer germinar las semillas en distintas condiciones de luminosidad: luz natural y oscuridad. Finalmente se hizo un experimento de germinación en el cual las semillas fueron sometidas a cuatro tratamientos pregerminativos (bajo luz natural). Las variables evaluadas fueron la capacidad germinativa, valor máximo de Czabator y periodo de energía.

El porcentaje promedio de viabilidad obtenido por semillas de *Geum quellyon*, según el Test del Tetrazolio fue de $84 \pm 14\%$.

En el experimento preliminar de germinación el tratamiento de luz natural fue el mejor evaluado en cuanto a capacidad germinativa (36%) y velocidad en la germinación (3,42). En cuanto al periodo de energía no hubo diferencias estadísticamente significativas entre ambos tratamientos.

En el experimento de germinación el tratamiento mejor evaluado fue el de imbibición en agua, el cual presentó los máximos valores en la capacidad germinativa (92,5%), en velocidad de germinación (14,17) y en periodo de energía (seis días).

SUMMARY

Geum quellyon (Hierba del Clavo) is a native plant of the Chilean flora ancestrally used by the Mapuches as a medicinal plant. Nowadays it is used by the Chilean population. It is collected between the regions Aconcagua and Magallanes.

Three studies were carried out between November and December 2006 in the Horticultural Laboratory of the Facultad de Ciencias Agrarias at the Universidad de Talca with the purpose of studying the germination of *Geum quellyon* and the effect of different pregerminative treatments on the seed germination.

The viability of the *Geum quellyon* seeds was determined by the tetrazolium topographic test. A preliminary germination experiment consisted in germinating the seed at different light conditions: natural light and darkness. Finally the effect of four different seeds treatments was studied. Germination capacity, the maximum Czabator value and the energy period were assessed.

According to the tetrazolium test it was observed that the mean value for the viability of *Geum quellyon* seeds was about $84 \pm 14\%$.

In the preliminary germination experiment the natural light treatment gave the best results as far as germination capacity (36%) and germination speed (3,42). For the energy period, there were no significant differences between treatments.

In the germination experiment the water imbibition treatment gave the best results as shown by the maximums values (4,73) in the germination capacity (92,5%), germination speed (14,17) and energy period (six days) .

INDICE

	Pág.
1. INTRODUCCION.....	1
2. REVISION BIBLIOGRAFICA.....	3
2.1. <i>Geum quellyon</i> (Hierba del Clavo), descripción general.....	3
2.1.1. Propiedades y usos.....	3
2.1.2. Germinación de semillas de <i>Geum quellyon</i>	4
2.2. Aspectos generales de la germinación de semillas	5
2.2.1. Etapas de la germinación	6
2.3. Evaluación de la viabilidad de semillas.....	7
2.4. Latencia de semillas.....	8
2.4.1. Tratamientos para superar la latencia de semillas	10
3. MATERIALES Y METODOS.....	12
3.1. Ubicación.....	12
3.2. Material vegetal	12
3.3. Métodos.....	12
3.3.1. Determinación de la viabilidad de semillas.....	12
3.3.2. Experimento preliminar de germinación	13
3.3.3. Experimento de germinación	14
3.4. Evaluación.....	15
3.5. Análisis estadístico.....	15
4. RESULTADOS.....	17
4.1. Viabilidad de semillas.....	17
4.2. Experimento preliminar de germinación.....	17
4.3. Experimento de germinación.....	19
5. DISCUSION	23
6. CONCLUSIONES.....	26

INDICE DE CUADROS

CAPITULO 4

	Pág.
4.1. Efecto de dos condiciones de luz sobre la capacidad germinativa, valor máximo de Czabator y periodo de energía (a los 30 días), de semillas de <i>Geum quellyon</i> sembradas en Noviembre de 2006.	19
4.2. Efecto de cuatro tratamientos pregerminativos sobre la capacidad germinativa, valor máximo de Czabator y periodo de energía (a los 30 días), de semillas de <i>Geum quellyon</i> sembradas en Noviembre de 2006..	21

INDICE DE FIGURAS

CAPITULO 4

	Pág.
4.1. Germinación acumulada en días después de siembra, en semillas de <i>Geum quellyon</i> sembradas en Noviembre de 2006.	18
4.2. Germinación acumulada en días después de siembra, en semillas de <i>Geum quellyon</i> sometidas a cuatro tratamientos pregerminativos, sembradas en Noviembre de 2006.	21

1. INTRODUCCION

Chile posee una gran variedad de plantas nativas, únicas en el mundo, esto como consecuencia de que nuestro país se encuentra geográficamente aislado, gracias a sus límites naturales, como el desierto de Atacama, los hielos antárticos, la Cordillera de los Andes y el Océano Pacífico.

Geum quellyon (Hierba del Clavo), es una planta nativa, ancestralmente utilizada por los Mapuches como planta medicinal (Hoffmann *et al.*, 1992). En la actualidad su uso se ha extendido a la población en general. Se colecta en los sectores cordilleranos de Chile entre la Quinta y la Décimo Segunda región. El conocimiento acerca de su uso se basa principalmente en la experiencia personal que se ha transmitido por generaciones, ya que los estudios empíricos al respecto en la actualidad son muy escasos.

En Chile la recolección o cosecha de plantas medicinales, se realiza de manera informal, es decir, se extrae materia prima desde la población silvestre, sin ninguna legislación que limite por ejemplo los volúmenes extraídos y los métodos utilizados en la extracción. En muy pocos casos existen sistemas productivos adecuados que garanticen la sustentabilidad de la materia prima.

Semillas de muchas especies germinan espontáneamente, pero aquellas que habitan ambientes adversos, como por ejemplo los sectores de secano o con inviernos fríos y largos, presentan problemas en la germinación, debido a mecanismos propios de la semilla, mediante los cuales su desarrollo se detiene con el objetivo de asegurar las condiciones ambientales óptimas para que el desarrollo de la nueva planta sea próspero (Vogel *et al.*, 2005).

Lo anterior sumado a la presión que ejercen sobre la población silvestre los depredadores naturales, como la cabra en el caso de *Geum quellyon*, se ha traducido en un peligro latente de extinción de ciertas plantas nativas.

La importancia de generar un abastecimiento seguro de materia prima que permita satisfacer la demanda actual y futura, ha derivado en un creciente interés por domesticar las especies nativas de manera de determinar las condiciones óptimas que permitan establecer sistemas de cultivo adecuados y sustentables en el tiempo, con el fin de poder asignar valor a nuestra flora endémica.

Como hipótesis a este estudio se plantea que las semillas de *Geum quellyon* necesitarán de algún tratamiento pregerminativo para lograr un alto nivel en su germinación.

El objetivo general es estudiar la germinación de *Geum quellyon* y el efecto de diferentes tratamientos pregerminativos sobre la emergencia de la semilla.

Los objetivos específicos son los siguientes:

- 1.- Determinar la viabilidad de las semillas de *Geum quellyon*.
- 2.- Evaluar el efecto de la luminosidad sobre la tasa de germinación de semillas de *Geum quellyon*.
- 3.- Determinar la efectividad de distintos tratamientos pregerminativos tales como: aplicación de ácido giberélico, escarificación mecánica e imbibición en agua.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1. Geum quellyon (Hierba del Clavo), descripción general.

Geum quellyon (Hierba del Clavo) es una especie nativa que pertenece a la familia *Rosaceae*, la cual posee aproximadamente 122 géneros y 3400 especies, muchas de las cuales son de gran importancia económica para el hombre, como el manzano, ciruelo, cerezo, entre otros frutales. Las Rosáceas se distribuyen mundialmente creciendo preferentemente en las regiones templadas del Hemisferio Norte.

La familia *Rosaceae* en Chile está representada por 50 especies, agrupadas en 17 géneros, uno de los cuales es *Geum*, el cual posee cuatro especies, siendo la Hierba del Clavo una de ellas y la única a la cual se le atribuyen propiedades medicinales (Hoffmann *et al.*, 1992). La Hierba del Clavo crece en la cordillera de nuestro país desde la Quinta a la Décimo Segunda región. La misma autora antes mencionada, describe esta especie como una hierba perenne, hirsuta, de raíz gruesa que alcanza 50 cm de altura. Presenta hojas radicales arrosetadas y compuestas de seis a diez pares de hojuelas asimétricas de bordes aserrados, con las hojas terminales mucho más grandes. Las hojas del tallo son puntiagudas y más chicas que las de la roseta basal y sus flores pueden ser rojas o amarillas de cinco pétalos en panículas abiertas. El fruto es un aquenio elipsoideo y cubierto de pelos, cuyo tamaño oscila entre tres y cinco milímetros, en tanto el peso de 1000 semillas es de 1,8 g (Berti *et al.*, 2006).

2.1.1. Propiedades y usos. Se le atribuyen propiedades para provocar o regular la menstruación, diurético, estimulante sexual, aperitivo, contra enfermedades de la piel, para mejorar la circulación sanguínea, entre otras (Hoffmann *et al.*, 1992)

El órgano utilizado es la raíz, la cual químicamente está compuesta por taninos hidrolizables, flavonoides y ácido gálico. Su aceite esencial, en tanto, está compuesto por eugenol (90%) y aldehído cinámico, el cual le otorga a la raíz un aroma intenso, que se desprende cuando la raíz fresca es manipulada. Este aroma es similar al clavo de olor lo cual ha dado a *Geum quellyon* su nombre vulgar de Hierba del Clavo (Muñoz *et al.*, 2001).

Para su utilización se prepara una infusión, la cual consiste en poner la raíz en medio litro de agua. Una vez blanda, ésta se troza o ralla y se hierve durante cinco minutos. La solución resultante se bebe o aplica en la zona afectada según los requerimientos (Hoffmann *et al.*, 1992).

2.1.2. Germinación de semillas de *Geum quellyon*. Los mejores resultados en cuanto a capacidad germinativa en esta especie se obtienen cuando la semilla se encuentra en condiciones de luminosidad (Berti *et al.*, 2006). La temperatura es otro factor que presenta influencia positiva en la germinación de semillas de *Geum quellyon* (Berti *et al.*, 2006). Los requerimientos térmicos son diferenciales dependiendo de la altitud (m.s.n.m) a la cual se recolecten las semillas, así semillas recolectadas a mayores alturas (sobre 1200 m.s.n.m) requieren también de temperaturas superiores para germinar. Berti *et al.*, (2006) señala que la temperatura óptima de germinación en semillas de *Geum quellyon* es de 23,3°C (mínima 6,5°C y máxima 38,5°C).

Bajo estas condiciones (luz y temperatura) la germinación comienza aproximadamente el día 13 después de realizada la siembra (DDS), alcanzando el máximo porcentaje de germinación aproximadamente el día 55 DDS (Berti *et al.*, 2006).

Graves y Taylor (1988) señalan, en el caso de las especies *Geum rivale* y *Geum urbanum* (especies ampliamente distribuidas en Europa, además de Asia y Norteamérica en el

caso de *Geum rivale*), la necesidad de temperaturas altas y constantes (24°C – 25°C aproximadamente) para lograr elevados porcentajes en la germinación (70%).

Riedemann y Aldunate (2003) recomiendan en el caso de la especie *Geum magellanicum* sembrar a comienzos de primavera en almácigo normal o en otoño en almácigo estratificado.

2.2. Aspectos generales de la germinación de semillas.

El suelo es el entorno al que habitualmente llegan las semillas como resultado de la diseminación natural de plantas espontáneas y cultivadas, lo cual da lugar a la existencia de una población de semillas, denominada “banco de semillas” (Besnier, 1989).

En general, el banco de semillas del suelo se encuentra bajo la influencia de factores ambientales fluctuantes, que en definitiva determinan su germinación, supervivencia en letargo o su muerte. Estos factores pueden ser abióticos: humedad, temperatura, gases, luz y presencia de sustancias tóxicas o inhibidoras abióticas del suelo; o bióticos: microorganismos del suelo y sustancias estimuladoras, tóxicas o inhibidoras de origen biológico en el suelo (Besnier, 1989).

Barceló *et al.*, (2003) define la germinación de semillas como una serie de acontecimientos metabólicos y morfogenéticos que tienen como resultado la transformación de un embrión en una plántula que sea capaz de valerse por sí sola y transformarse en una planta adulta.

El punto de término de la germinación es discutido por fisiólogos y analistas de semillas.

Numerosos especialistas en fisiología vegetal fijan este término en el momento en que la radícula rompe la testa; por el contrario los analistas de semillas que se rigen por las Normas Internacionales de la ISTA, toman como término de la germinación el momento, bastante poco preciso, en que las plántulas surgidas de las semillas están completas y se puede apreciar la integridad de sus estructuras (Besnier, 1989).

La germinación tiene tres requisitos básicos. Primero: la semilla debe ser viable; es decir, el embrión debe estar vivo y capaz de germinar. Segundo: la semilla debe ser puesta en condiciones ambientales favorables, siendo los factores esenciales, agua disponible, temperatura apropiada y provisión de oxígeno. Tercero: cuando las condiciones ambientales externas son favorables, deben superarse condiciones internas que impiden la germinación. Para superar estas condiciones internas a veces se hacen necesarios tratamientos pregerminativos (Hartmann *et al.*, 1997).

2.2.1 Etapas de la germinación. La germinación puede ser descrita en tres etapas. La primera etapa de la germinación corresponde a la absorción de agua, condición indispensable para la activación del metabolismo. Esta absorción es debida principalmente a los compuestos proteicos, mucílagos y sustancias pécticas, de las semillas.

Ocurre en tres fases, una fase inicial de rápida absorción, una fase intermedia donde el agua de la semilla permanece casi constante y finalmente una fase de absorción intensa, relacionada con el alargamiento de las células (Besnier, 1989).

“La inbibición está relacionada con la diferencia de potencial hídrico existente entre la semilla y el sustrato húmedo en el que éstas se encuentran. Constituye un fenómeno

puramente físico que tiene también lugar en las semillas muertas o aletargadas y va acompañado por desprendimiento de calor” (Besnier, 1989).

La rapidez con que ocurre este proceso dependerá del contacto de la semilla con el sustrato húmedo, y de la permeabilidad y morfología de las cubiertas. Una excesiva rapidez en esta etapa, especialmente cuando existe un exceso de agua en el sustrato, tiene generalmente efectos desfavorables para la germinación y posterior crecimiento de plántulas, dado que el contenido celular se hace soluble pero las paredes celulares no están aún suficientemente hidratadas para funcionar como membranas semipermeables y por lo tanto impedir la salida de solutos (Besnier, 1989).

En la segunda etapa, luego de la absorción de agua, para que continúe la germinación, los complejos compuestos insolubles de reserva deben ser digeridos enzimáticamente para formar materias solubles más simples y ser trasladados a las regiones de crecimiento donde son asimiladas para proveer energía para el crecimiento o para su conversión en nuevo material celular (Hartmann *et al.*, 1997).

La tercera etapa ocurre cuando la radícula rompe la testa y se produce la libre entrada de oxígeno a la semilla y su consumo aumenta rápidamente, produciéndose un aumento de la respiración y de la actividad metabólica lo cual desencadena, entre otras cosas, la movilización de las reservas suministrando así abundante sustrato para los siguientes procesos respiratorios mucho más eficaces energéticamente que los iniciales (Hartmann *et al.*, 1997).

2.3. Evaluación de la viabilidad de semillas.

Distintos ensayos son capaces de determinar la viabilidad de las semillas, entre los cuales destacan la germinación directa, excisión del embrión, cultivo de embriones y el test topográfico del tetrazolio (TTC).

El TTC permite distinguir las semillas vivas de las muertas, mediante el estudio de la coloración producida en los embriones al embeber las semillas en una solución de sales de tetrazolio (cloruro o bromuro 2,3,5 trifenil tetrazolio) al 0,1-1,0%, neutra (pH 6,5-7,5), a temperatura de 30°C, evitando el contacto directo de la luz con la solución para impedir su deterioro (Besnier, 1989).

El mismo autor señala que la actividad de las deshidrogenasas indica el grado de respiración de los tejidos del embrión y por lo tanto de su vitalidad, lo cual se mide por la extensión, distribución e intensidad de la coloración roja que adquieren los tejidos embebidos en la solución incolora de tetrazolio, que al ser reducida por las deshidrogenasas, se convierte en trifenil formazan, que tiene color, es estable y no difusible.

Las ventajas de este método radican en la alta correlación entre la coloración de los tejidos del embrión y la viabilidad de las semillas, la sencillez de su aplicación, la persistencia del cambio de color, la capacidad de obtener reacción en semillas aletargadas como no aletargadas, y la rapidez con que se obtienen los resultados (2-24 horas) (Besnier, 1989).

2.4. Latencia de semillas.

Una de las propiedades adaptativas más importantes de los vegetales es la capacidad que presentan las semillas de retener su viabilidad durante períodos prolongados de tiempo, lo que les permite sobrevivir en condiciones adversas (Barceló et al., 2003).

Besnier (1989), definió letargo como, "el fenómeno por el cual una semilla viable no germina cuando se coloca en un sustrato húmedo, aireado y a temperatura suficiente para sostener los procesos metabólicos que conducen a la germinación".

Barceló et al., (2003) establece dos formas mediante las cuales las semillas manifiestan el letargo. Una es la incapacidad de germinar como consecuencia de la ausencia de condiciones adecuadas, a la que se denomina latencia impuesta. La segunda forma denominada latencia innata u orgánica, se relaciona con ciertas condiciones intrínsecas de la semilla y es más importante que el primer mecanismo. Además describe cinco causas principales que explican la ocurrencia de letargo:

- Inmadurez morfológica del embrión

En diversas plantas se encuentran semillas cuyo embrión no ha alcanzado habitualmente su tamaño normal o no está totalmente diferenciado en el momento de la separación de la semilla de la planta madre. En estos casos será necesario someter a las semillas por un cierto período a condiciones ambientales que induzcan el crecimiento del embrión hasta alcanzar su tamaño normal o bien que éste se diferencie en sus órganos constitutivos. Una vez completado este período, las semillas podrán germinar inmediatamente o por el contrario, pueden entrar en letargo fisiológico.

- Inhibición fisiológica

Ocurre cuando un embrión totalmente desarrollado, en condiciones favorables no germina a causa de desequilibrios fisiológicos o bioquímicos, por lo cual resultan inactivos metabólicamente. Dejar pasar un período de tiempo, como en el caso anterior tiene buenos resultados para superar estos desequilibrios.

- Presencia de inhibidores

En este caso las cubiertas pueden contener sustancias que inhiben la germinación o impiden que los inhibidores presentes en el embrión se eliminen por difusión al exterior.

Algunos de los inhibidores de la germinación han sido identificados como sustancias químicas específicas: amoníaco, ácido cianhídrico, etileno, aceites esenciales, ácidos

orgánicos no saturados, cumarina, ácido ascórbico entre otras. Pero las principales sustancias que intervienen en forma endógena en la latencia son por un lado la giberelinas como promotores y el ácido abscísico como inhibidor (Hartmann *et al.*, 1997).

- Impermeabilidad de cubiertas al agua y gases

Las semillas con cubiertas impermeables al agua, impiden que se produzca el proceso de inhibición. Asimismo, al impedir el ingreso de gases al embrión, como el oxígeno se restringe el desencadenamiento de los procesos respiratorios necesarios y por lo tanto se produce el letargo.

- Resistencia mecánica de las cubiertas

Cubiertas mecánicamente resistentes envuelven a las semillas impidiendo la salida de la radícula.

2.4.1. Tratamientos para superar la latencia de semillas. El letargo en semillas de distintas especies puede ser superado mediante tratamientos que alteran dicho mecanismo. La eficiencia obtenida con estos tratamientos depende de la especie y el grado de letargo que tenga la semilla (Besnier, 1989).

Los tratamientos recomendados más conocidos son los siguientes:

- Escarificación

La escarificación consiste en cualquier proceso de rompimiento, raspado, o que altere mecánicamente o ablande las cubiertas de la semilla para hacerlas permeables al agua y a los gases. Puede realizarse por medio de la frotación, con arena, agua caliente o con ácido. Este es un tratamiento tendiente a superar la latencia impuesta por la cubierta de la semilla (Hartmann *et al.*, 1997).

La escarificación mecánica consiste en romper las cubiertas pinchándolas, cortándolas o frotándolas con papel lija, cuidando no dañar el embrión. La escarificación química se realiza mediante la utilización de solventes de grasas tales como ácido o alcohol, entre otros.

- Imbibición en agua

Este método consiste en la eliminación de los inhibidores presentes en las cubiertas por medio del lavado de las semillas, para lo cual las semillas son sumergidas en agua a temperatura ambiente o el agua es cambiada con frecuencia. Este tratamiento se realiza por un período que varía de 12 a 24 horas.

- Tratamiento con giberelinas

Algunos experimentos con hormonas exógenas han demostrado que la latencia de muchas semillas puede ser superada mediante la aplicación de giberelinas, citoquininas y etileno (Besnier, 1989).

El mismo autor indica para este tratamiento que, se requiere una solución al 0,05% de ácido giberélico (GA_3); si el letargo es débil basta una solución al 0,02% y si es fuerte se precisa una solución al 0,1%.

- Tratamientos combinados

En aquellas semillas que presentan más de un tipo de letargo es necesario combinar algunos tratamientos para superar las barreras que impiden la germinación ya sea impuesta por la cubierta de la semilla como por el embrión (Hartmann *et al.*, 1997).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Ubicación.

La determinación de la viabilidad de semillas y los experimentos de germinación se realizaron en las dependencias del Laboratorio de Hortalizas perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Talca, entre Noviembre y Diciembre de 2006.

3.2. Material vegetal.

El material vegetal utilizado corresponde a semillas de poblaciones silvestres de *Geum quellyon*, recolectadas en Marzo de 2006 en la precordillera de la VII región, sector Corral de Salas (1966 m.s.n.m, 35° 54' latitud sur, 70° 57' latitud oeste). El tamaño medio de semillas fue de $3,7 \pm 0,7$ mm y el número de semillas por gramo: 693.

Las semillas estuvieron almacenadas a temperatura ambiente (15°C – 20°C aproximadamente) en sobres de papel, por alrededor de ocho meses antes de ser utilizadas en la realización de los distintos ensayos. Para la realización de éstos se seleccionaron semillas libres de daño y de grano lleno.

3.3. Métodos.

3.3.1. Determinación de la viabilidad de semillas. Esta se evaluó mediante el test topográfico del tetrazolio (TTC), para lo cual se utilizaron 200 semillas distribuidas en cinco repeticiones de 40 unidades cada una. El procedimiento se describe a continuación:

Las semillas fueron hidratadas en agua bidestilada a temperatura ambiente por un periodo de ocho horas.

Una vez hidratadas las semillas se eliminaron las cubiertas mediante la frotación con papel lija (para madera, granulometría 220), y se hizo un corte superficial en el lado opuesto al embrión.

Luego las semillas se sumergieron en la solución neutra (pH 6,5-7,5) de TTC al 0,1% por dos horas en condiciones de luz tenue y temperatura ambiente.

Pasado el tiempo indicado se extrajo el embrión de las semillas y se observó bajo luz apropiada la coloración que éste presentaba, según el criterio que las semillas cuyos embriones estén 100% coloreados son viables (Besnier, 1989).

3.3.2. Experimento preliminar de germinación. Para evaluar previamente la tasa de germinación de las semillas de Hierba del Clavo sin tratamientos pregerminativos se realizó un experimento preliminar, el cual consistió en hacer germinar las semillas en distintas condiciones de luminosidad (luz natural y oscuridad) a temperatura ambiente (23°C – 25°C aproximadamente).

El experimento se hizo en diseño completamente al azar (DCA), utilizando 400 semillas (previamente seleccionadas) correspondientes a cinco repeticiones de 40 unidades cada una para cada tratamiento. El experimento se realizó entre Noviembre y Diciembre de 2006 (Temperatura ambiente: 23°C – 25°C aproximadamente)

Las semillas desinfectadas con una solución fungicida (Captan 1%) fueron puestas en placas petri con papel filtro previamente humedecido con agua bidestilada. Las placas petri fueron selladas con Parafilm para evitar la pérdida de humedad.

En el tratamiento de oscuridad las placas petri se forraron con papel aluminio.

Los ensayos se observaron diariamente por 30 días registrando el día de inicio de la germinación y el número de semillas germinadas para cada tratamiento y repetición.

3.3.3. Experimento de germinación. Para determinar aquellas condiciones que aseguren una mayor capacidad germinativa se realizó un experimento de germinación en el cual las semillas se sometieron a los siguientes tratamientos pregerminativos:

- Testigo: las semillas testigo no fueron sometidas a ningún tipo de tratamiento.
- Aplicación de ácido giberélico: las semillas fueron depositadas en una solución de ácido giberélico al 0,02% por 24 horas. Para esto se disolvieron 0,02 g de ácido giberélico en 50 ml de alcohol concentrado al 95% y luego se agregó 50 ml de agua bidestilada.
- Escarificación mecánica: se realizó un corte en la semilla (polo opuesto al embrión) cuidando no dañar el embrión.
- Imbibición en agua: las semillas fueron puestas en agua bidestilada (sin cambio de agua), por un periodo de 24 horas a temperatura ambiente.

Luego de aplicados los tratamientos las semillas previamente desinfectadas con una solución fungicida (Captan 1%) se dispusieron en papel filtro previamente humedecido con agua bidestilada dentro de placas petri selladas con Parafilm y mantenidas a temperatura ambiente (23°C – 25°C aproximadamente).

El control de la germinación fue el mismo descrito anteriormente para el experimento preliminar de germinación.

Para este ensayo se utilizaron 800 semillas correspondientes a cinco repeticiones por tratamiento de 40 unidades cada una.

3.4. Evaluación.

Se consideró como semilla germinada aquella en que la radícula rompió la testa y alcanzó aproximadamente 2 mm de longitud.

Las variables evaluadas son las siguientes:

- Capacidad germinativa: corresponde al porcentaje de germinación obtenido al término del ensayo.
- Valor máximo de Czabator: es el máximo cociente obtenido al dividir la germinación acumulada (porcentaje) en cualquier día, por el número de días necesarios para obtener dicha germinación (Czabator, 1962).
- Periodo de energía: periodo de días transcurrido desde que comienza el ensayo hasta obtener el valor máximo.

3.5. Análisis estadístico.

Utilizando el Software Statgraphics Plus, cada experimento fue analizado separadamente mediante un análisis de varianza (ANDEVA) de acuerdo al diseño experimental utilizado, para determinar diferencias significativas entre los tratamientos.

Para la comparación de medias se utilizó el test LSD de Fisher en el experimento preliminar de germinación y el test HSD de Tukey para el experimento de germinación, ambos con un 95% de confianza.

Previamente los datos en porcentajes fueron transformados dado que, una aplicación válida de pruebas de significancia en el análisis de varianza exige que los errores se distribuyan normal e independientemente con una varianza común (Gómez y Gómez, 1984).

Los rangos de porcentaje de las variables presentaron valores que fluctuaron entre 0 y 100% por lo que se utilizó la siguiente fórmula recomendada por Gómez y Gómez (1984).

$$Y = \text{Arc sen } \sqrt{X/100}$$

Donde:

X = valores en porcentaje

Y = valores transformados

4. RESULTADOS

4.1. Viabilidad de semillas

En la realización del test de viabilidad se utilizaron 200 semillas distribuidas en cinco repeticiones de 40 semillas cada una. Dicho material vegetal fue recolectado en Marzo de 2006 en la precordillera de la VII región, sector Corral de Salas, desde poblaciones silvestres de *Geum quellyon*. Las semillas estuvieron almacenadas por alrededor de ocho meses, en condiciones de temperatura (15°C – 20°C aproximadamente) y humedad ambiente, antes de realizar el test de viabilidad.

El valor medio del porcentaje de viabilidad observado en semillas de *Geum quellyon*, según el test del Tetrazolio fue de 84 ± 14 %.

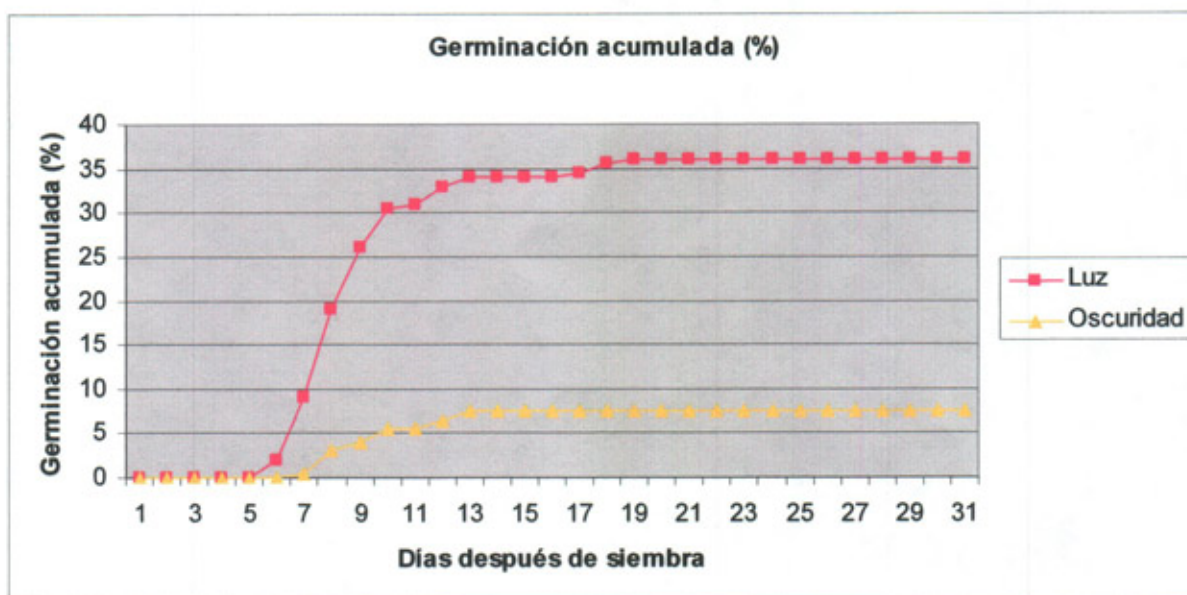
4.2. Experimento preliminar de germinación

Las semillas de *Geum quellyon* fueron sembradas en Noviembre de 2006, en dos condiciones de luminosidad (luz natural y oscuridad) a temperatura ambiente (23°C – 25°C aproximadamente) a fin de evaluar previamente la germinación sin la aplicación de tratamientos pregerminativos. Cada tratamiento constaba de cinco repeticiones de 40 semillas cada una. El ensayo se observó diariamente por un periodo de 30 días.

En el control diario se observó que en las semillas de *Geum quellyon* sembradas en condiciones de luminosidad se produjo germinación en todas las repeticiones. La germinación comenzó el quinto día (2%) luego de iniciado el ensayo, y se prolongó por alrededor de 13 días, alcanzando el máximo porcentaje de semillas germinadas (36%) el día 18. Desde entonces el porcentaje de germinación acumulada se mantuvo constante hasta el término del ensayo.

En semillas de la misma especie bajo condiciones de oscuridad también se observó germinación en las cinco repeticiones, iniciándose la germinación el sexto día de realizada la siembra con menor porcentaje de germinación (0,5%) que el tratamiento de luz. En este tratamiento la germinación se prolongó por seis días, alcanzando el máximo porcentaje de semillas germinadas (7,5%) el día 12. A partir de ese momento el porcentaje de germinación acumulada se mantuvo constante hasta el término del ensayo (Figura 4.1).

Figura 4.1: Germinación acumulada en días después de siembra, en semillas de *Geum quellyon* sembradas en Noviembre de 2006.



El cuadro 4.1 muestra el promedio de la capacidad germinativa, valor máximo de Czabator y período de energía obtenido por semillas de *Geum quellyon* frente a los tratamientos de luz y oscuridad.

Cuadro 4.1: Efecto de dos condiciones de luz sobre la capacidad germinativa, valor máximo de Czabator y periodo de energía (a los 30 días), de semillas de *Geum quellyon* sembradas en Noviembre de 2006.

Tratamiento	Capacidad germinativa (%)	Valor máximo De Czabator	Periodo de energía (días)
Oscuridad	7,50 b	0,77 b	8
Luz	36,00 a	3,42 a	9
Significancia	*	*	n.s.

Valores seguidos por la misma letra en las columnas, no difieren estadísticamente entre sí (Test LSD de Fisher $p \leq 0,05$)

El tratamiento de luz obtuvo los mejores resultados en cuanto a capacidad germinativa (36%) y velocidad en la germinación (3,42) significativamente más altos que el tratamiento de oscuridad.

En cuanto al periodo de energía el análisis estadístico no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

4.3. Experimento de germinación

Las semillas de *Geum quellyon* fueron sometidas a cuatro tratamientos pregerminativos, a fin de evaluar el efecto de estos en la capacidad germinativa, valor máximo de Czabator y el periodo de energía.

La siembra se realizó en Noviembre de 2006. Cada tratamiento constaba de cinco repeticiones de 40 semillas cada una. El ensayo fue realizado bajo condiciones de luz natural y temperatura ambiente (23°C – 25°C aproximadamente). Se observó diariamente por un periodo de 30 días.

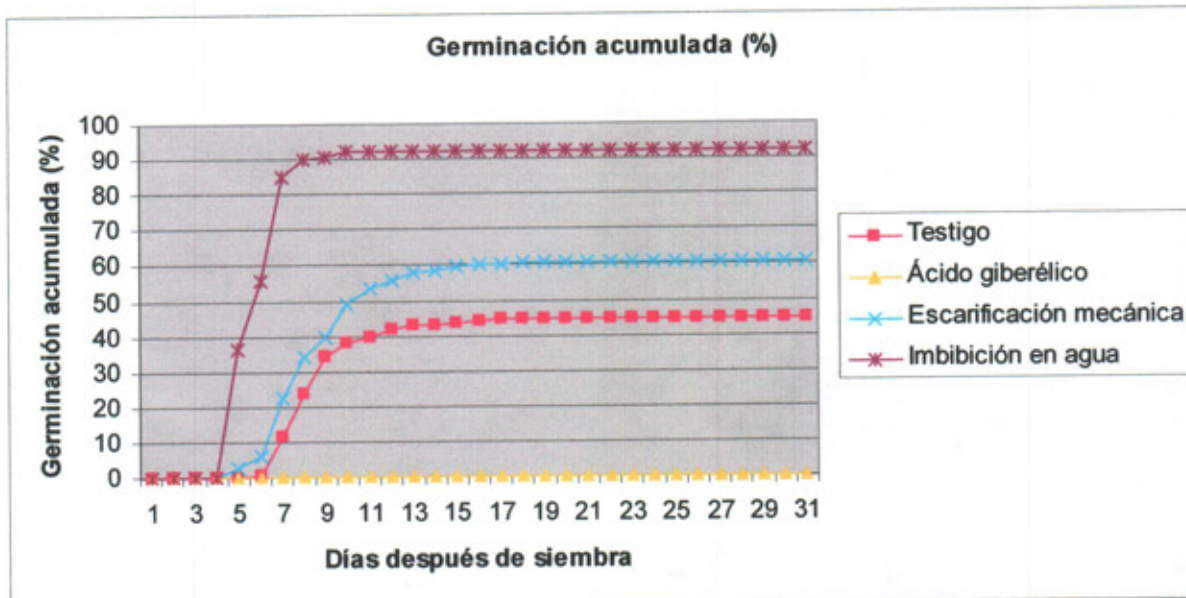
En el control diario se pudo observar que las semillas de *Geum quellyon* sometidas al tratamiento de imbibición en agua y escarificación mecánica presentaron germinación en todas sus repeticiones y fueron las primeras en germinar, el cuarto día luego de iniciado el ensayo, momento en que el porcentaje de semillas germinadas alcanzó un 36,5% en el tratamiento de imbibición en agua, valor bastante menor (3%) en el tratamiento de escarificación mecánica (Figura 4.2).

En el tratamiento de imbibición en agua la germinación se prolongó por alrededor de seis días, alcanzando el máximo porcentaje de semillas germinadas (92,5%) el día 10 a partir del cual el porcentaje de germinación acumulada se mantuvo constante hasta el término del ensayo. En tanto en el tratamiento de escarificación mecánica la germinación se prolongó por alrededor de 13 días, alcanzando el día 17 el máximo porcentaje de germinación acumulada (61%) manteniéndose constante hasta el término del ensayo.

Posteriormente germinó el tratamiento testigo, en el cual también se observó germinación en todas las repeticiones. La germinación comenzó el quinto día con bajo porcentaje de germinación (0,5%) en comparación a los tratamientos mencionados anteriormente. Se prolongó por alrededor de 12 días, alcanzando el máximo porcentaje de germinación acumulada (45%) el día 17, el cual se mantuvo constante hasta el término del ensayo.

Las semillas sometidas a la aplicación de ácido giberélico no mostraron germinación en ninguna de sus repeticiones durante el periodo observado (Figura 4.2).

Figura 4.2: Germinación acumulada en días después de siembra, en semillas de *Geum quellyon* sometidas a cuatro tratamientos pregerminativos, sembradas en Noviembre de 2006.



En el cuadro 4.2 se presentan los promedios para cada uno de los tratamientos estudiados en relación a la capacidad germinativa, valor máximo de Czabator y periodo de energía.

Cuadro 4.2: Efecto de cuatro tratamientos pregerminativos sobre la capacidad germinativa, valor máximo de Czabator y periodo de energía (a los 30 días), de semillas de *Geum quellyon* sembradas en Noviembre de 2006.

Tratamiento	Capacidad germinativa (%)	Valor máximo De Czabator	Periodo de energía (días)
Ácido giberélico	0,00 d	0,00 d	0 c
Testigo	45,00 c	4,35 c	8 b
Escarificación mecánica	61,00 b	5,58 b	9 b
Imbibición en agua	92,50 a	14,17 a	6 a
Significancia	*	*	*

Valores seguidos por la misma letra en las columnas, no difieren estadísticamente entre sí (HSD de Tukey $p \leq 0,05$)

Al analizar los cuatro tratamientos pregerminativos, el análisis de varianza mostró que hubo diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos en todas las variables estudiadas.

Para el caso de la capacidad germinativa el tratamiento de imbibición en agua presentó el máximo valor con un 92,5%, significativamente más alta que todos los demás tratamientos. El tratamiento de escarificación mecánica obtuvo un valor de 61%, estadísticamente más alto que el tratamiento testigo, el cual obtuvo una capacidad germinativa de 45%.

En el caso del valor máximo de Czabator el tratamiento de Imbibición en agua fue el mejor evaluado con un valor igual a 14,17, significativamente más alto que el resto de los tratamientos. El tratamiento de escarificación mecánica obtuvo un valor de 5,58 significativamente más alto que el tratamiento testigo, el cual obtuvo un valor de 4,35.

En cuanto al periodo de energía el tratamiento de imbibición en agua fue el mejor evaluado, presentando un valor de seis días, estadísticamente superior que el tratamiento testigo. En tanto el tratamiento de escarificación mecánica no difirió estadísticamente de tratamiento testigo.

5. DISCUSIÓN

El valor medio del porcentaje de viabilidad obtenido en semillas de *Geum quellyon* según el test topográfico del tetrazolio, fue de $84 \pm 14\%$

El experimento preliminar de germinación permitió conocer que las semillas de *Geum quellyon* sembradas en condiciones de luz y oscuridad germinan luego de pocos días (5 y 6 días respectivamente) de realizada la siembra, prolongándose la germinación por un mayor periodo (13 días) en el caso de semillas sembradas bajo condiciones de luminosidad que en semillas bajo condiciones de oscuridad (seis días). En ambos casos el porcentaje de germinación aumenta rápidamente, alcanzando el máximo de semillas germinadas (36%) el día 18 luego de iniciado el ensayo en el tratamiento de luz y el día 12 en el tratamiento de oscuridad (7,5%).

Además, se pudo observar que las distintas condiciones de luminosidad tuvieron efecto positivo en la capacidad germinativa y el valor máximo de Czabator que mide la velocidad de germinación, ya que el tratamiento de luz obtuvo los mejores resultados en cuanto a dichas variables (capacidad germinativa= 36% y Czabator= 3,42) significativamente más altos que el tratamiento de oscuridad. En este sentido Berti *et al.*, (2006) señala que la germinación en semillas de *Geum quellyon* es beneficiado cuando la semilla queda expuesta a la luz.

En cuanto al período de energía el análisis estadístico no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

En el experimento de germinación de los distintos tratamientos aplicados a semillas de *Geum quellyon* para identificar el o los factores que podrían incidir en su capacidad germinativa, el mejor evaluado fue el tratamiento de imbibición en agua, el cual obtuvo un 92,5% de

capacidad germinativa, valor significativamente más alto que el tratamiento testigo, el cual obtuvo un 45% de capacidad germinativa.

Lo anterior concuerda con lo expuesto en la hipótesis inicial, en la cual se planteaba la necesidad de someter a las semillas de *Geum quellyon* a algún tratamiento pregerminativo para lograr un alto nivel en la germinación.

En la velocidad de germinación expresada por el valor máximo de Czabator que indica el máximo cociente obtenido al dividir la germinación acumulada (porcentaje) en cualquier día por el número de días necesarios para obtener dicha germinación, se observó que, al igual que en la capacidad germinativa el tratamiento de imbibición en agua fue el mejor evaluado, con un valor de 14,17, significativamente superior al testigo cuyo valor fue de 4,35.

Lo mismo ocurrió con el periodo de energía que mide el periodo de días transcurrido desde que comienza el ensayo hasta obtener el valor máximo, puesto que el tratamiento de imbibición en agua fue también el mejor evaluado en dicha variable obteniendo un valor de seis días, significativamente superior al testigo el cual obtuvo un valor de ocho días.

Lo expuesto anteriormente sugiere que la testa sería en parte responsable de la menor capacidad germinativa, velocidad de germinación y mayor periodo de energía no por presentar resistencia mecánica o constituir una barrera impermeable a los gases (el tratamiento de escarificación mecánica obtuvo valores significativamente inferiores que el tratamiento de imbibición en agua en todas las variables estudiadas), sino que más bien por la presencia en las cubiertas de sustancias que inhiben la germinación o impiden que los inhibidores presentes en el embrión se eliminen al exterior por difusión, como ocurre con ciertos tipos de arroz cuyas cubiertas contiene ácido abscísico por lo cual las semillas deben lavarse para poder iniciar la germinación (Besnier, 1989).

La aplicación de ácido giberélico afectó negativamente la germinación de semillas de *Geum quellyon* ya que las semillas sometidas a dicho tratamiento no presentaron germinación en todo el periodo observado. En un estudio complementario realizado entre Septiembre y Octubre de 2006, las semillas de *Geum quellyon* fueron tratadas con una concentración mayor de ácido giberélico (0,05%), en tal caso las semillas sometidas a dicho tratamiento tampoco presentaron germinación en todo el periodo observado. No se tiene certeza si fue la concentración o el tiempo de exposición al cual fueron sometidas las semillas a pesar de que ambos parámetros se encuentran recomendados en la bibliografía (Besnier, 1989).

6. CONCLUSIONES

La especie *Geum quellyon* presentó una capacidad germinativa de 36% al ser sembrada en condiciones de luminosidad. Este valor fue superior al obtenido en semillas de la misma especie sembrada en condiciones de oscuridad en donde la capacidad germinativa alcanzó el 7,5%. La velocidad de germinación también fue superior en el tratamiento de luz.

Las diferentes condiciones de luminosidad presentaron diferencias significativas en la germinación de las semillas de *Geum quellyon*, siendo la exposición a la luz el tratamiento mejor evaluado para afectar positivamente la capacidad germinativa y el valor máximo de Czabator (velocidad de germinación).

Además, se justifica la imbibición en agua por 24 horas (sin cambio de agua a temperatura ambiente) en dicha especie con el fin de lograr un alto nivel en la germinación (capacidad germinativa: 92,5%, velocidad de germinación: 14,17, periodo de energía: seis días).

El tratamiento de escarificación mecánica presentó una mayor capacidad germinativa (61%) y velocidad en la germinación (5,58) que el tratamiento testigo (capacidad germinativa: 45%, velocidad de germinación: 4,35). En cuanto al periodo de energía no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos tratamientos.

La aplicación de ácido giberélico afectó negativamente la germinación de semillas de *Geum quellyon* ya que las semillas sometidas a dicho tratamiento no presentaron germinación en todo el periodo observado.

7. BIBLIOGRAFIA

Barceló, J.; Nicolás, G.; Sabater, G.; Sánchez, R. 2003. Fisiología vegetal. Ediciones Pirámide. Madrid, España. 566 p.

Berti, M.; Tramón, C.; Fischer, S.; Wilckens, R.; Inostroza, L.; Baeza, M.; Tapia, M.; Pastene, E.; Del Pozo, A. 2006. Avances en la multiplicación y caracterización de algunas plantas medicinales nativas. Ministerio de Agricultura de Chile. Servicio Agrícola y Ganadero. 134 p.

Besnier, F. 1989. Semillas, biología y tecnología. Editorial Mundi-Prensa. España. 637 p.

Czabator, F. 1962. Germination value: An index combining speed and competeness of pine seed germination. *Forest Science* 8 (4). 386 - 396 pp.

Gómez, K y Gómez, A. 1984. Statistical procedures for agricultural research. 2 ed. Editorial Wiley – Interscience, Estados Unidos. 307 – 308 pp.

Graves, J y Taylor, K. 1988. A comparative study of *Geum rivale* L. and *Geum urbanum* L. to determine those factors controlling their altitudinal distribution: III. The response of germination to temperature. (en línea). <http://links.jstor.org>. Consultado el 17 de Noviembre de 2006.

Hartmann, H.; Kester, D.; Davis, F.; Geneve, R. 1997. Plant Propagation: Principles and Practices. 5 ed. Upper Saddle River, New Jersey. 713 p.

Hoffmann, A.; Farga, C.; Lastra, J.; Veghazi, E. 1992. Plantas medicinales de uso común en Chile. 2 ed. Ediciones Fundación Claudio Gay. Santiago, Chile. 273 p.

Muñoz, O; Montes, M.; Wilkomirsky, T. 2001. Plantas medicinales de uso en Chile: química y farmacología. Editorial Universitaria. Santiago, Chile. 330 p.

Riedemann, P. y Aldunate, G. 2003. Flora nativa de valor ornamental: identificación y propagación Chile zona sur. Editorial Andrés Bello. Santiago, Chile. 517 p.

Vogel, H.; Razmilic, I.; San Martín, J.; Doll, U.; González, B. 2005. Plantas medicinales chilenas: experiencias de domesticación y cultivo de Boldo, Matico, Bailahuén, Canelo, Peumo y Maqui. Editorial Universidad de Talca. Talca, Chile. 192 p.