



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
INGENIERÍA FORESTAL

CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *Eucryphia cordifolia* Cav. (ULMO) Y *Caldcluvia paniculata* (Cav.) D. Don (TIACA) DEL BOSQUE TEMPLADO LLUVIOSO, CHILE

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad de Concepción para optar al título profesional de Ingeniero Forestal

POR: Alvaro Enrique Castillo Cuevas

Profesor Guía: Dr. Manuel Sánchez Olate

Marzo, 2024

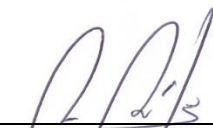
Concepción, Chile

© 2024, Alvaro Enrique Castillo Cuevas

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento


CARACTERIZACIÓN FÍSICA Y GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *Eucryphia cordifolia* Cav. (ULMO) Y *Caldcluvia paniculata* (Cav.) D. Don (TIACA) DEL BOSQUE TEMPLADO LLUVIOSO, CHILE

Profesor Guía




Manuel Sánchez Olate
Profesor Asociado.
Ingeniero Forestal, PhD.

Profesor Guía



Eduardo Cartes Rodríguez
Colaborador Externo
Ingeniero Forestal.

Profesor Guía



Marta González Ortega
Colaborador Externo
Ingeniero Forestal. M.Sc.

DEDICATORIA

A mis padres por apoyarme en todos mis procesos, enseñarme los valores que hoy me forman y que todo con dedicación en la vida se logra, a mi hermano Christopher por ser mi primer amigo y acompañarme siempre, a mi abuelita Judith quien me enseñó lo que es la vida en el campo y amar la naturaleza, y a toda mi familia y amigos que me acompañaron en todo este camino.

AGRADECIMIENTOS

A todo el equipo del Centro tecnológico de la planta forestal del Instituto Forestal, Marta González, Eduardo Cartes, Manuel Acevedo quienes son investigadores comprometidos en su labor en la restauración del bosque nativo chileno, a Blanca Eyzaguirre auxiliar del vivero quien me enseñó el cuidado y tratamiento de las semillas, a todos ellos por haberme acogido como un amigo y enseñarme todo lo que sé de viveros, a Manuel Sánchez profesor asociado a este proyecto de título, por su confianza y apoyo en todo mi proceso como estudiante orientado a la viverización, y por supuesto a todos los docentes, personal administrativo y auxiliares de la Facultad de Ciencias Forestales, que participaron en mi perfil de egreso , nutriendo en conocimientos y valores, contribuyendo en la competencia y formación profesional como Ingeniero Forestal.

TABLA DE CONTENIDOS.

RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. METODOLOGÍA	7
2.1. Colecta de semillas	7
2.2. Caracterización de semillas	10
2.3. Viabilidad de semillas.....	14
2.4. Ensayo de germinación.....	16
2.5. Análisis de datos	19
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20
3.1. Cantidad de semillas por kilogramo	20
3.2. Viabilidad de semillas.....	22
3.3. Tasa de Imbibición de semillas	24
3.4. Ensayo de germinación.....	27
IV. CONCLUSIÓN	34
V. BIBLIOGRAFÍA	36

INDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Número de semillas por kilogramo de <i>Caldcluvia paniculata</i> , en cuatro procedencias evaluadas. Se indican valores promedio \pm desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre procedencias.....	21
Tabla 2 Viabilidad semillas <i>Eucryphia cordifolia</i> en cuatro procedencias evaluadas. Se indica valores promedio \pm desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre procedencias.....	22
Tabla 3. Viabilidad semillas <i>Caldcluvia paniculata</i> , en cuatro procedencias evaluadas. Se indica valores promedio \pm desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre procedencias.....	23
Tabla 4 Tasa de imbibición de <i>Eucryphia cordifolia</i> en cuatro procedencias evaluadas. Se indica valores promedio \pm desviación estándar. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas entre tiempos de imbibición para cada procedencia. Letras mayúsculas distintas indican diferencias entre procedencias para cada tiempo de imbibición.	25

INDICE DE ILUSTRACIONES

Figura 1. Sitios de colecta de semillas para las especies <i>Eucryphia cordifolia</i> y <i>Caldcluvia paniculata</i>	7
Figura 2. Colecta de frutos de la especie <i>Eucryphia cordifolia</i> (a,b y c) y <i>Caldcluvia paniculata</i> (d, e y f).	8
Figura 3. Frutos de <i>Eucryphia cordifolia</i> (a y b) y de <i>Caldcluvia paniculata</i> (c y d) recolectados en campo (a y c), y semillas obtenidas luego del proceso de limpieza (b y d).....	9
Figura 4. Pesaje de muestras de 100 semillas de <i>Eucryphia cordifolia</i> (a) y <i>Caldcluvia paniculata</i> (b), para caracterización de la cantidad de semillas por kilogramo.	11
Figura 5. Monitoreo de peso de 100 semillas de <i>Eucryphia cordifolia</i> (a, b y c) y <i>Caldcluvia paniculata</i> (d, e y f) tras 0, 24, 48 y 72 horas de remojo en agua destilada. Remojo de semillas (a y d), secado exterior de semillas (b y e), monitoreo de peso (c y f).	12
Figura 6. Secado de semillas de <i>Eucryphia cordifolia</i> (a) y <i>Caldcluvia paniculata</i> (b), en horno de ventilación forzada, para obtención de peso seco de 100 semillas.....	13
Figura 7. Evaluación viabilidad de semillas de <i>Eucryphia cordifolia</i> , por tinción con solución de 2, 3, 5 Trifenil Cloruro de Tetrazolio al 1%. Corte de semilla con bisturí (a), semillas teñidas (b).....	15

Figura 8. Evaluación viabilidad de semillas de <i>Caldcluvia paniculata</i> , por tinción con solución de 2, 3, 5 Trifenil Cloruro de Tetrazolio al 1%. Semilla teñida vista desde un microscopio 40X (a), semillas aplastadas para verificar su tinción (b y c).....	15
Figura 9. Aplicación de tratamientos pre-germinativos en semillas de <i>Eucryphia cordifolia</i> (a) y <i>Caldcluvia paniculata</i> (b), correspondiente a tres niveles de concentración de ácido giberélico.....	16
Figura 10. Siembra de ensayo de germinación de <i>Eucryphia cordifolia</i> (a y c) y <i>Caldcluvia paniculata</i> (b y d).....	18
Figura 11. Riego de ensayo de germinación de <i>Eucryphia cordifolia</i> (a) y <i>Caldcluvia paniculata</i> (b).....	18
Figura 12 . Incremento del contenido de humedad de semillas de <i>Eucryphia cordifolia</i> según tiempo de imbibición. Símbolos y barras indican valores promedio \pm desviación estándar.	25
Figura 13. Incremento del contenido de humedad de semillas de <i>Caldcluvia paniculata</i> según tiempo de imbibición. Símbolos indican valores promedio \pm desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas.	26
Figura 14. Germinación de <i>Eucryphia cordifolia</i> , según tratamientos pre-germinativos y procedencias evaluadas. Símbolos indican valores promedio \pm desviación estándar. Letras indican diferencias significativas entre tratamientos pre-germinativos para cada procedencia. NS: diferencias no significativas entre tratamientos pre-germinativos aplicados para cada instancia de medición.	30

Figura 15. Germinación de *Caldcluvia paniculata* según procedencias evaluadas. Símbolos indican valores promedio \pm desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre las procedencias evaluadas al término del ensayo de germinación..... 31

Figura 16. Germinación *Caldcluvia paniculata* según tratamientos pre-germinativos aplicados. Símbolos indican valores promedios \pm desviación estándar. NS: diferencias no significativas entre tratamientos pre-germinativos aplicados para cada instancia de medición. 32

RESUMEN

Los bosques del sur de Chile están dentro de los 36 hotspot del mundo, han sufrido una severa degradación por perturbaciones antrópicas y cambio climático. Dentro de los compromisos suscritos por el país, están la forestación de 70 mil hectáreas de cubierta forestal permanente con especies nativas, e incorporar 1 millón de hectáreas de paisajes a procesos de restauración, sin embargo, como uno de los principales cuellos de botella para la restauración de estos ecosistemas forestales se identifica la baja disponibilidad de semillas y plantas nativas de calidad. Es por ello, que se hace necesario investigar la propagación de semillas nativas. El objetivo de este estudio, fue evaluar las características físicas y el efecto del ácido gibérelico (GA_3) en las semillas de *Eucryphia cordifolia* y *Caldecluvia paniculata* de diferentes procedencias. Se realizaron análisis físicos siguiendo los estándares de la International Seed Testing Association (ISTA). Además, se aplicaron distintas concentraciones de (GA_3) como tratamientos pre-germinativos para estimular la germinación de las semillas. Los resultados indican que hay diferencias en los tiempos de imbibición para ambas especies, y que existen diferencias en la viabilidad de las semillas entre las procedencias. La aplicación de ácido gibérelico acelera el proceso de germinación, pero no afecta la capacidad germinativa alcanzada al final del ensayo.

ABSTRACT

The forests of southern Chile are among the 36 hotspots in the world; they have suffered severe degradation due to anthropogenic disturbances and climate change. Among the commitments signed by the country are the afforestation of 70 thousand hectares of permanent forest cover with native species and incorporating 1 million hectares of landscapes into restoration processes, however, as one of the main bottlenecks for the restoration of these forest ecosystems, the low availability of quality seeds and native plants is identified. This is why it is necessary to investigate the propagation of native seeds. The objective of this study was to evaluate the physical characteristics and the effect of gibberellic acid (GA_3) on the seeds of *Eucryphia cordifolia* and *Caldcluvia paniculata* from different origins. Physical analyzes were carried out following the standards of the International Seed Testing Association (ISTA). In addition, different concentrations of (GA_3) were applied as pre-germinative treatments to stimulate seed germination. The results indicate that there are differences in imbibition times for both species, and that there are differences in seed viability between provenances. The application of gibberellic acid accelerates the germination process but does not affect the germination capacity reached at the end of the test.

I. INTRODUCCIÓN

Chile tiene la mayor superficie de bosques templados en América del Sur y más de la mitad en el hemisferio sur, siendo uno de los 36 hotspots de biodiversidad (Conservation International 2020, Donoso 1993; Echeverría *et al* 2010), estos bosques han sido clasificados como prioritarios para la conservación mundial, debido a su crítico estado de conservación (Armesto *et al.* 1998, 1992, Olson & Dinerstein 1998). Se distribuyen a lo largo de la costa y la Cordillera de los Andes, desde los 35° a los 56° S (Conaf *et al.* 1999, Echeverría *et al.* 2010). Donde la mayor concentración de especies endémicas se encuentra entre los 36° y 40° S (Villagrán y Hinojosa 1997).

La flora chilena es una gran fuente de productos naturales, ya que presenta 5.471 especies, de éstas, 4.655 corresponden a especies nativas, de las cuales 2.145 son endémicas, correspondiendo a casi el 50% de las especies (Rodríguez *et al.* 2018). Esta autoctonía, sumado a características geográficas que actúan como barreras naturales, representan un gran potencial comercial y de innovación para la cadena apícola nacional, ya que los productos originados en las colmenas de *Apis mellifera* adquieren las propiedades de las plantas que los producen con características únicas (Montenegro y Ortega 2013, Montenegro 2000).

Sin embargo, estos ecosistemas enfrentan amenazas como deforestación, intervención humana, erosión, expansión agrícola, ganadera, urbanización y cambio climático (Altamirano 2010). Donde, la sobreexplotación de bosques, falta

de criterios silviculturales y extracción inadecuada de recursos contribuyen a su degradación (INFOR 2012). Estas actividades antrópicas generan presiones en los ecosistemas, alterando estructura, funcionamiento, resiliencia y capacidad de brindar servicios a la sociedad (Díaz 2005).

En estos bosques es posible encontrar la especie *Eucryphia cordifolia* Cav. (Ulmo), con gran importancia melífera e importante componente de los bosques nativos del sur de Chile. Es una especie entomófila, polinizada principalmente por abejas, siendo identificada como una de las especies de mayor producción de néctar (Consortio de Desarrollo Tecnológico Apícola [CDTA] 2020, Donoso 2006). La miel de *E. cordifolia* es apreciada en el mercado chileno, con mejores precios que las mieles poliflorales, caracterizándose por su color blanquecino y aroma floral anisado con propiedades bactericidas y fungicidas (Montenegro 2013, 2000). Dentro de sus usos, se encuentra la leña, de calidad insuperable, su madera altamente resistente y de un color llamativo para muebles (Donoso 2013).

De igual forma, *Caldcluvia paniculata* (Cav.) D. Don (Tiaca), árbol nativo del sur de Chile y Argentina (Rodríguez 2005). Es común en lugares húmedos y sombríos hasta los 1.000 m.s.n.m., no tiene problema de conservación, pero sus ejemplares de gran tamaño son relativamente escasos. Esta especie está representada en numerosos parques y reservas naturales de Chile y Argentina (García y Ormazábal 2008). Debido a su hermoso follaje puede ser utilizado como árbol ornamental, la infusión de sus hojas es útil para combatir fiebres e

infecciones intestinales, su abundante floración, se destaca por la calidad que proporcionan a la miel tan sabrosa como la de *E. cordifolia* pero más suave con propiedades bactericidas y fungicidas (CDTA 2020, García y Ormazábal 2008, Montenegro 2013, Vidal 2014).

Chile al igual que otros 114 países han suscrito una serie de compromisos de restauración (Sewell *et al.* 2020). En el contexto del Acuerdo de Paris y la actualización de la Contribución Determinada a Nivel Nacional realizada en 2020, Chile comprometió la forestación de al menos 70.000 hectáreas de especies nativas destinadas a la formación de una cubierta forestal permanente y la incorporación a procesos de restauración de 1.000.000 ha de paisajes (Cordero y Vasconi 2021).

Sin embargo, el abastecimiento de plantas nativas en cantidad y calidad ha sido identificada como uno de los cuellos de botella para la restauración (Acevedo *et al.* 2021, Bannister *et al.* 2018). A esto, se suma la baja disponibilidad de semillas para proyectos de restauración y reforestación con especies nativas, con carencias en estándares de colecta, almacenamiento y propagación (León-Lobos *et al.* 2020).

En Chile, la recolección de semillas nativas carece de regulación y a menudo se utiliza sin información sobre su origen (Atkinson *et al.* 2018). Utilizar métodos y protocolos adecuados en la recolección de semillas es fundamental para mantener la calidad y diversidad genética del material vegetal, considerando la variación genética entre y dentro de las poblaciones (Brown y Hardner 2000).

Siendo un paso fundamental, la selección de fuentes semilleras adaptadas al lugar de establecimiento, y con capacidad de adaptación en respuesta al cambio climático (Gann *et al.* 2019, Gibson y Nelson 2017, Randall y Berrang 2002).

Profundizar en los conocimientos de la biología, características y tratamientos pre-germinativos óptimos de las semillas, es crucial para maximizar la germinación y reducir costos de producción de plantas (Broadhurst *et al.* 2015, Doria 2010, León-Lobos *et al.* 2020). Donde, parámetros como el peso, la viabilidad, humedad, tasa de imbibición y germinación, han sido identificados como claves para evaluar la calidad de las semillas (Baskin y Baskin 1977, Urgiles 2020).

El tamaño de las semillas de diferentes especies de plantas presenta una alta variación, a pesar de que se trata de un órgano vegetal cuyo origen ontogenético es constante y que tiene una función bien definida (Bonilla 2014). A esta variabilidad, se le suman para una misma especie, las cuales pueden obedecer al tamaño, a la existencia de semillas vanas, o por excesiva desecación prematura, efectos edafoclimáticos, edad de los árboles madre y área geográfica (Fors 1967, Hoces 1988).

Es importante documentar el comportamiento de imbibición de la semilla para entender sus procesos metabólicos, medir esta absorción antes de los tratamientos pre-germinativos a escala operativa previene la deterioración de la germinación de las semillas (Bonner *et al.* 1994, Cartes *et al.* 2022).

Para que una semilla genere una plántula debe ocurrir la germinación, en estas fases 1) imbibición, 2) activación del metabolismo y proceso de respiración, síntesis de proteínas y movilización de sustancias de reserva del embrión y, 3) elongación del embrión y ruptura de la testa a través de la cual se observa la salida de la radícula (Suárez y Melgarejo 2010). Así la determinación de la viabilidad de las semillas y la ausencia de inhibidores de la germinación permite conocer su potencial para germinar (Azcón-Bieto y Talón 2000).

Para las especies *E. cordifolia* y *C. paniculata*, se documenta una latencia fisiológica (Figuroa y Jaksic 2004, Figuroa *et al.* 1996), causada por un mecanismo que restringe la inhibición del embrión previniendo la emergencia de la radícula (Pérez *et al.* 2003). Las semillas con latencia fisiológica presentan ritmos anuales de entrada y salida de este estado, se caracteriza principalmente porque para lograr la germinación se requiere un periodo de enfriamiento en húmedo, conocido como estratificación fría (Bell *et al.* 1999, Bouwmeester y Karssen 1993, Derkx y Karssen 1994, Grime *et al.* 1981, Sharma y Amritphale 1989, Probert *et al.* 1989).

La capacidad germinativa de las semillas puede ser influenciada por la exposición ambiental de la planta madre durante el desarrollo de la semilla, no solo entre diferentes especies, sino que también entre diferentes procedencias de semillas de la misma especie (Villiers 1972). Las giberelinas están implicadas directamente en el control y promoción de la germinación de las semillas; donde el ácido giberélico (GA_3) puede romper la latencia de las semillas y remplazar la

necesidad de estímulos ambientales, tales como luz y temperatura (Araya *et al.* 2000).

En este contexto, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar las características físicas de las semillas y germinación para cuatro procedencias de *E cordifolia* y *C paniculata*, aportando así información para la conservación y propagación de estas especies.

II. METODOLOGÍA

2.1. Colecta de semillas

Para las especies *Eucryphia cordifolia* Cav. (Ulmo) y *Caldcluvia paniculata* (Cav.) D. Don (Tiaca), se realizó la colecta de semillas de cuatro procedencias dentro del rango de distribución de las especies, correspondiente a tres procedencias de la Cordillera de los Andes y una procedencia de la Isla Grande de Chiloé (Figura 1).

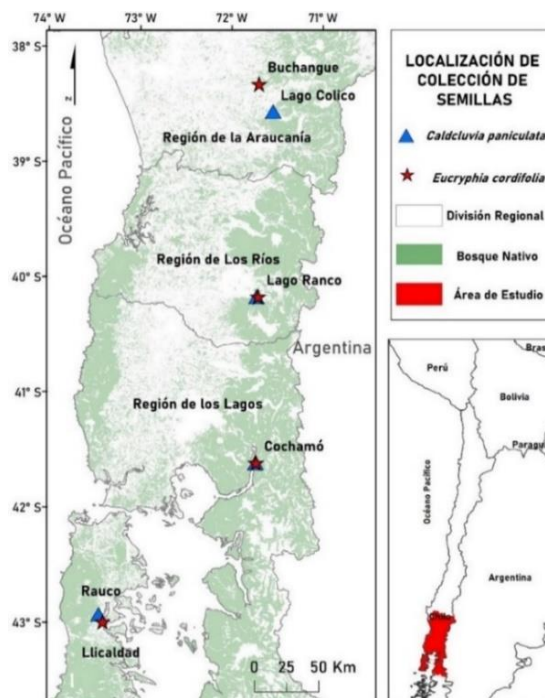


Figura 1. Sitios de colecta de semillas para las especies *Eucryphia cordifolia* y *Caldcluvia paniculata*.

La colecta de semillas se realizó entre los meses de marzo y mayo del 2022, recolectando frutos desde al menos diez individuos para cada una de las especies, con una distancia mínima de 15 metros entre cada árbol madre (Figura 2).



Figura 2. Colecta de frutos de la especie *Eucryphia cordifolia* (a,b y c) y *Caldcluvia paniculata* (d, e y f).

Una vez recolectados los frutos, estos fueron trasladados al Centro Tecnológico de la Planta Forestal (CTPF) del Instituto Forestal (36°50.9' S; 73°7.9' W), región del Biobío, Chile, para su limpieza, realizando la remoción de hojas, ramillas e insectos. Los frutos se mantuvieron en un invernadero hasta lograr la completa apertura de estos y así obtener las semillas (Figura 3).



Figura 3. Frutos de *Eucryphia cordifolia* (a y b) y de *Caldcluvia paniculata* (c y d) recolectados en campo (a y c), y semillas obtenidas luego del proceso de limpieza (b y d).

2.2. Caracterización de semillas

Se realizó la caracterización del número de semillas por kilogramo, tasa de imbibición, viabilidad de semillas para cada procedencia y especie evaluada.

Para la determinación de la cantidad de semillas por kilogramo, se obtuvieron seis muestras de 100 semillas para cada procedencia y especie, las cuales fueron pesadas en balanza analítica a precisión de 0,00001 g, aplicando la Ecuación 1 para la determinación de la cantidad de semillas por kilogramo (Figura 4).

Ecuación 1

$$\text{Cantidad de semillas por kilogramo } (Semillas/kg) = \frac{Cant. Sem * 1.000 (g/kg)}{P_{Cant.Sem}(g)}$$

Donde:

Cantidad de semillas por kilogramo: cantidad de semillas por kilogramo (*Semillas/kg*).

Cant. Sem: cantidad de semillas de muestra utilizada.

P_{Cant.Sem}(g): peso de la muestra de semillas utilizada, expresada en gramos.

1.000 (*g/kg*): factor de conversión.



Figura 4. Pesaje de muestras de 100 semillas de *Eucryphia cordifolia* (a) y *Caldcluvia paniculata* (b), para caracterización de la cantidad de semillas por kilogramo.

Para la evaluación de la tasa de imbibición, correspondiente al incremento del contenido de humedad (base seca) de las semillas tras el remojo, se obtuvieron 12 muestras de 100 semillas cada una, para cada procedencia y especie evaluada, las cuales fueron separadas en dos lotes de seis muestras (réplicas) cada uno.

Para el primer lote de semillas, se registró su peso tras 0, 24, 48 y 72 horas de remojo en agua destilada, a precisión de 0,00001g de cada réplica (Figuras 5).

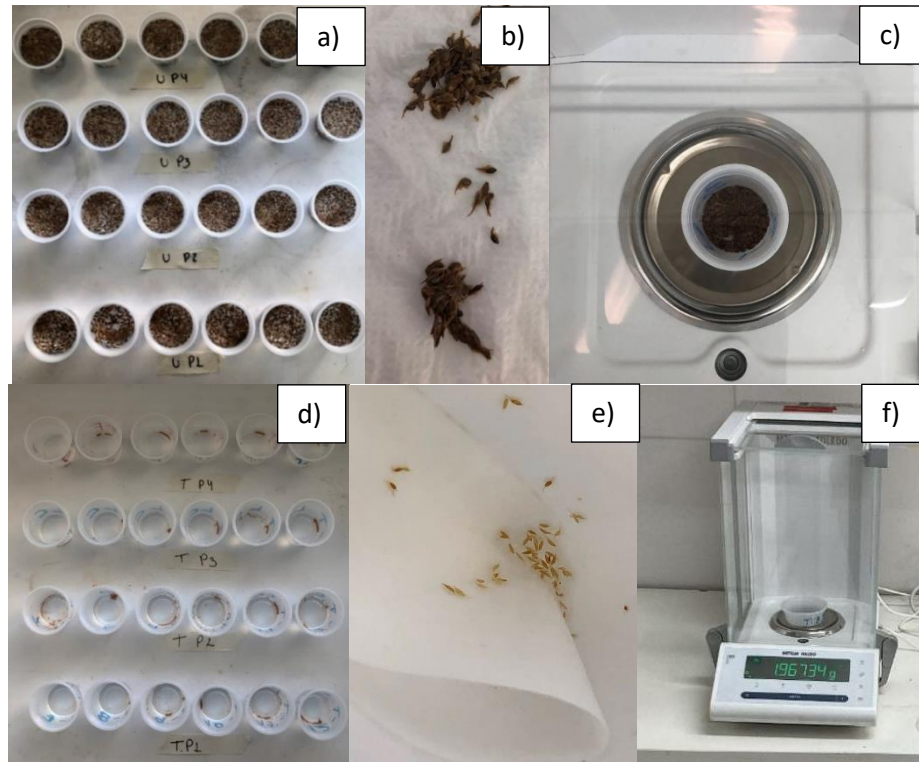


Figura 5. Monitoreo de peso de 100 semillas de *Eucryphia cordifolia* (a, b y c) y *Caldcluvia paniculata* (d, e y f) tras 0, 24, 48 y 72 horas de remojo en agua destilada. Remojo de semillas (a y d), secado exterior de semillas (b y e), monitoreo de peso (c y f).

El segundo lote de semillas, se utilizó para la obtención del peso seco de semillas a precisión de 0,00001 g, luego de 17 horas de secado en horno de ventilación forzada a 65 °C (Figura 6).

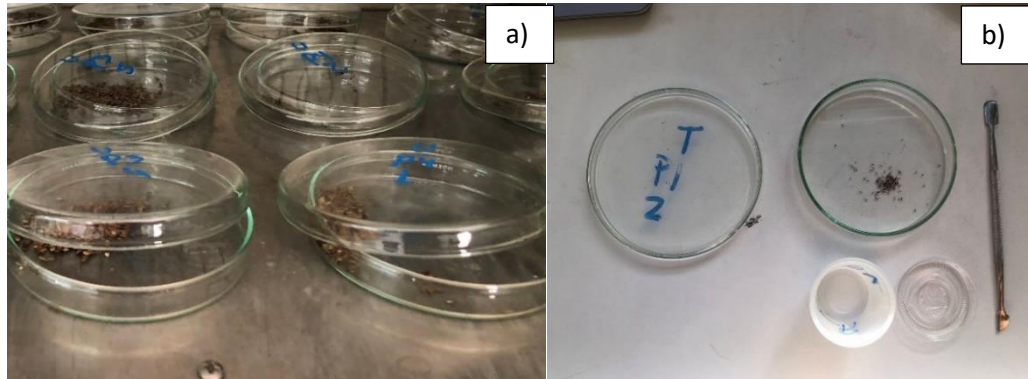


Figura 6. Secado de semillas de *Eucryphia cordifolia* (a) y *Caldcluvia paniculata* (b), en horno de ventilación forzada, para obtención de peso seco de 100 semillas.

El contenido de humedad (base seca) de las semillas para cada tiempo de remojo, se obtuvo utilizando la Ecuación 2.

Ecuación 2

$$\text{Contenido de humedad } \%_{(base\ seca)} = \frac{P_{humedo(g)} - P_{seco(g)}}{P_{seco(g)}} * 100$$

Donde:

$Contenido\ de\ humedad\ \%_{(base\ seca)}$: contenido de humedad en base seca, representa la proporción del peso de agua que contiene la semilla, respecto a su peso seco.

$P_{seco(g)}$: promedio del peso de semillas secas (n= 6) para cada especie y procedencia, expresado en gramos.

$P_{humedo(g)}$: peso de semillas húmedas, expresado en gramos.

100: factor de conversión, transforma la proporción en porcentaje.

2.3. Viabilidad de semillas

La viabilidad de semillas se determinó mediante pruebas de tinción. Para ello, se obtuvieron seis muestras de 100 semillas (réplicas) para cada procedencia y especie, las cuales fueron dispuestas en una placa Petri, realizando el remojo en una solución de 2, 3, 5 Trifenil Cloruro de Tetrazolio al 1%, a una temperatura de 26 °C dentro de un horno de ventilación forzada durante un periodo de 16 horas.

Trascurrido el periodo de remojo, se realizó el conteo de semillas teñidas (semillas viables) en cada una de las réplicas de cada procedencia y especie. Para el caso de *E. cordifolia* se realizó el corte longitudinal, verificando la tinción del embrión, mientras que para *C. paniculata*, dado el reducido tamaño de las semillas, se verificó la tinción mediante el aplastamiento de las semillas (Figuras 7 y 8). La viabilidad se estimó como la proporción de semillas teñidas, respecto al total de semillas sometidas a remojo, para cada réplica, procedencia y especie.



Figura 7. Evaluación viabilidad de semillas de *Eucryphia cordifolia*, por tinción con solución de 2, 3, 5 Trifenil Cloruro de Tetrazolio al 1%. Corte de semilla con bisturí (a), semillas teñidas (b).

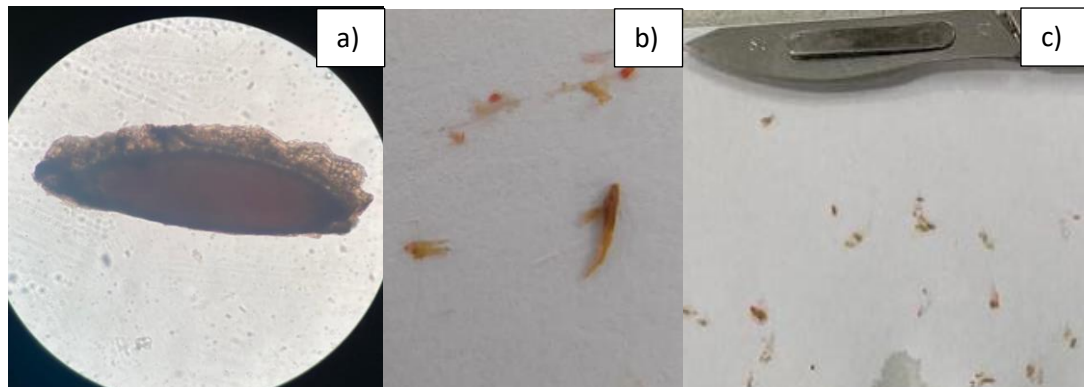


Figura 8. Evaluación viabilidad de semillas de *Caldcluvia paniculata*, por tinción con solución de 2, 3, 5 Trifenil Cloruro de Tetrazolio al 1%. Semilla teñida vista desde un microscopio 40X (a), semillas aplastadas para verificar su tinción (b y c).

2.4. Ensayo de germinación

Se realizó la evaluación de germinación de semillas. Para ello se obtuvieron seis muestras de 100 semillas (réplicas), para cada tratamiento pre-germinativo a aplicar, correspondientes al remojo de semillas durante 48 horas a concentraciones de ácido giberélico a 0 mg L⁻¹ (agua), 250 mg L⁻¹ y 500 mg L⁻¹, para cada procedencia y especie (Figura 9).

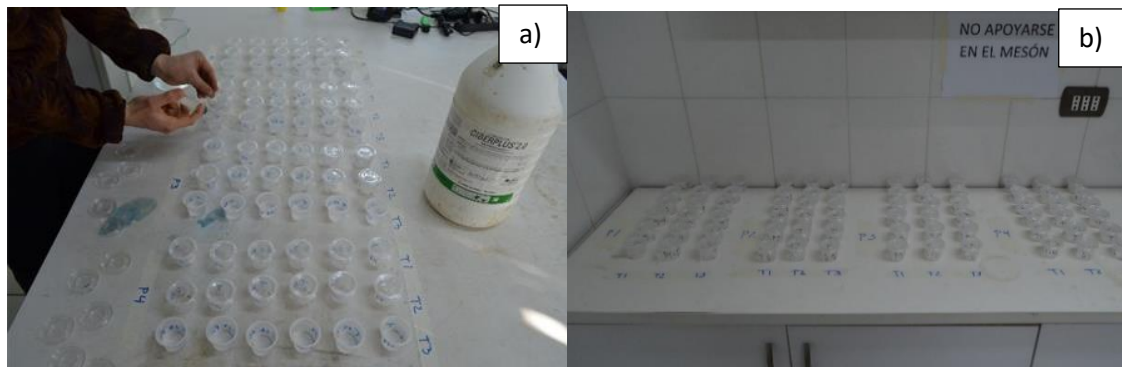


Figura 9. Aplicación de tratamientos pre-germinativos en semillas de *Eucryphia cordifolia* (a) y *Caldcluvia paniculata* (b), correspondiente a tres niveles de concentración de ácido giberélico.

Transcurrido el tiempo de remojo, las semillas fueron sembradas en maceteros, utilizando como sustrato corteza de *Pinus radiata* D. Don compostada de granulometría inferior a 10 mm, previamente esterilizado en autoclave mediante tres ciclos de 30 minutos cada uno a una temperatura de 121°C. El ensayo de

germinación fue evaluado en condiciones de invernadero, limitando la temperatura máxima del aire a 25°C mediante sistema de ventilación forzada. Se estableció un fotoperíodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad con seis lámparas de halogenuro metálico de 400 W cada una.

La siembra se realizó en julio del 2022 (Figura 10), realizando la evaluación de germinación mediante el conteo del número de plántulas emergidas del sustrato (emergencia del epicótilo) tres veces por semana (lunes, miércoles y viernes) , se regaron día por medio con aspersores con micropulverizador para evitar que las semillas quedaran descubiertas (Figura 11), durante 60 días desde la fecha de siembra.

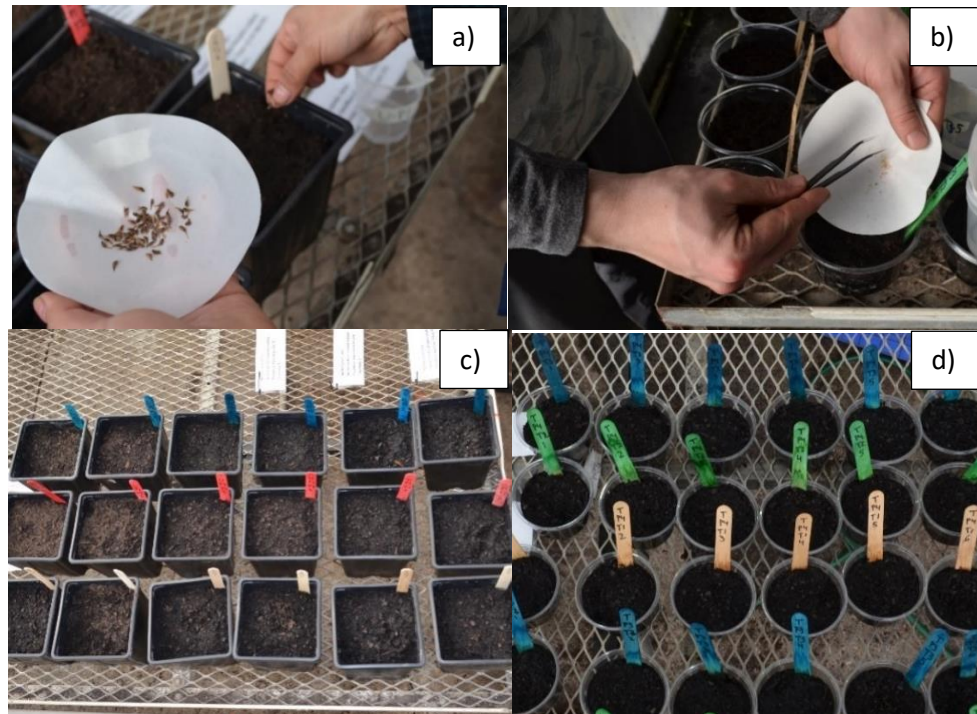


Figura 10. Siembra de ensayo de germinación de *Eucryphia cordifolia* (a y c) y *Caldcluvia paniculata* (b y d).

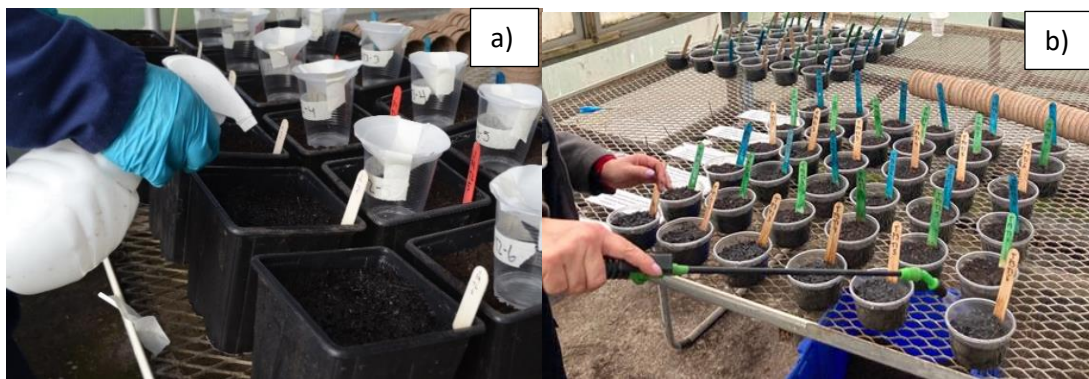


Figura 11. Riego de ensayo de germinación de *Eucryphia cordifolia* (a) y *Caldcluvia paniculata* (b).

2.5. Análisis de datos

Se realizó la comparación de la cantidad de semillas por kilogramo, mediante un análisis de varianza de una vía para el factor procedencia (PROCED, cuatro niveles), con seis réplicas, para cada especie evaluada.

El análisis del incremento del contenido de humedad de las semillas (tasa de imbibición), se realizó mediante un análisis de medidas repetidas de dos factores para cada especie, considerando el tiempo de imbibición de agua (TIMB, cuatro niveles) y procedencia (PROCED, cuatro niveles) como factores, con seis réplicas, evaluado para cada especie.

Para la germinación, el diseño experimental correspondió a un diseño completamente al azar con arreglo factorial, para los factores tratamientos pregerminativos (TRAT, tres niveles) y procedencia (PROCED, cuatro niveles), con seis réplicas. Para cada especie, se realizó un análisis de varianza para cada instancia de medición (MED), considerando como factores el tratamiento pregerminativo (TRAT) y procedencia (PROCED), evaluando los efectos principales e interacciones.

Los análisis se realizaron a través de modelo lineales generalizados mixtos utilizando PROC GLIMMIX (SAS Institute, Cary, NC, EE. UU.) con selección de distribución y estructura de la varianza-covarianza residual considerando los Criterios de Información de Akaike, según el caso. Se realizaron pruebas de comparación múltiple para efectos significativos según Tukey.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Cantidad de semillas por kilogramo

Para *E. cordifolia*, no se observaron diferencias significativas para el número de semillas por kilogramo entre las procedencias evaluadas (PROCED; $p = 0,1898$), con un valor promedio de 692.981 ± 17.383 semillas kg^{-1} .

El número de semillas por kilogramo en de *E. cordifolia* varía desde los 500.000 a 900.000 semillas y es probable que los valores más altos sean por semillas vacías o de muy mala calidad o desarrollo. (Donoso, Escobar y González 1993).

Mientras que para la especie *C. paniculata*, se observa un efecto altamente significativo de la procedencia (PROCED; $p < 0,0001$), donde las semillas de mayor tamaño pertenecen a la procedencia de Lago Ranco con un promedio de $9.123.529 \pm 656.089$ semillas kg^{-1} , lo que representa una menor cantidad de semillas por kilogramo. Por otro lado, las semillas de menor tamaño se observan en la procedencia de Rauco, lo que representa una mayor cantidad de semillas por kilogramo, con un promedio de $11.637.338 \pm 438.106$ semillas kg^{-1} (Tabla 1).

Tabla 1. Número de semillas por kilogramo de *Caldcluvia paniculata*, en cuatro procedencias evaluadas. Se indican valores promedio \pm desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre procedencias.

Especie	Cantidad de semillas kg ⁻¹			
	Lago Colico	Lago Ranco	Cochamó	Rauco
<i>Caldcluvia paniculata</i>	10.475.975 \pm 662.031 b	9.132.529 \pm 656.089 c	10.601.006 \pm 309.118 b	11.637.338 \pm 438.106 a

Donoso (2003), para una procedencia de Valdivia de la especie *C. paniculata*, reporta un promedio de $8.912.500 \pm 80.571$ semillas kg⁻¹, lo que indicaría que las semillas de las procedencias evaluadas en este estudio resultarían ser de menor tamaño.

El tamaño de la semilla se considera como un indicador de calidad fisiológica, dado que se correlaciona positivamente con el vigor de las plantas (Aguilar 1995, Rendón *et al.* 2002, Aráoz *et al.* 2004), y mayor capacidad de sobrevivencia, por lo que el tamaño de la semilla puede afectar potencialmente no sólo el éxito inmediato de las plántulas, sino también la generación siguiente (Wulff 1986).

Las semillas de diversas especies varían grandemente en aspecto, tamaño, forma, situación y estructura del embrión y presencia de tejidos de almacenamiento. En cada especie, tales variaciones pueden fluctuar considerablemente de año a año, de lugar a lugar y de planta a planta (Hartmann 1982).

La variación del tamaño de la semilla es un rasgo crítico que determina el tamaño temprano de las plántulas y aumenta las probabilidades de establecimiento bajo condiciones críticas (Galetti *et al.* 2013).

3.2. Viabilidad de semillas

Para *E. cordifolia*, la estimación de viabilidad de las semillas de la especie, se observa un efecto significativo de la procedencia (PROCED; $p = 0,0003$), la prueba de tetrazolio mostro que aun así todas las procedencias obtuvieron valores de viabilidad muy altos, superando el 96% (Tabla 2).

Tabla 2 Viabilidad semillas *Eucryphia cordifolia* en cuatro procedencias evaluadas. Se indica valores promedio \pm desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre procedencias.

Especie	Viabilidad			
	Buchangue	Lago Ranco	Cochamó	Llicaldad
<i>Eucryphia cordifolia</i>	1,00 \pm 0,00 a	0,99 \pm 0,01 a	0,96 \pm 0,01 b	0,99 \pm 0,02 a

Un estudio realizado por Donoso (2003), durante los años 1986 a 1991 se evaluó la viabilidad de una procedencia de Cordillera de la costa, en el mes de abril se obtuvo un 83,8% y fue disminuyendo gradualmente hasta 22,8% en octubre, lo que es coincidente con la cantidad mensual de producción de semillas, que disminuye con el paso de los meses del año, lo que demuestra que la especie tiene una alta viabilidad al comienzo y que solo se ve afectada con el tiempo de

guardado. La correlación entre el monto de producción mensual de semillas del árbol madre y su viabilidad es altísima, del mismo modo que los años evaluados de más alta producción coinciden con los de más alta viabilidad y los con más baja producción con los de menor viabilidad.

Para la estimación de viabilidad de las semillas de la especie *C. paniculata*, se observa un efecto altamente significativo de la procedencia (PROCED; $p < 0,0001$). Las semillas con mayor viabilidad pertenecen a la procedencia de Cochamó, con un promedio de semillas viables de 72 ± 14 % mientras que la de menor viabilidad se observa para la procedencia de Lago Cólico con un promedio de semillas viables de 41 ± 5 % (Tabla 3).

Tabla 3. Viabilidad semillas *Caldcluvia paniculata*, en cuatro procedencias evaluadas. Se indica valores promedio \pm desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre procedencias.

Especie	Viabilidad			
	Lago Cólico	Lago Ranco	Cochamó	Rauco
<i>Caldcluvia paniculata</i>	$0,41 \pm 0,05$ c	$0,57 \pm 0,13$ ab	$0,72 \pm 0,14$ a	$0,48 \pm 0,02$ bc

Según Donoso (2003), la viabilidad a través de prueba de corte para una procedencia en la Cordillera de la costa de Valdivia fue de un 80 %. Lo que demuestra la variabilidad que existe entre las procedencias.

Las semillas observadas mostraron variaciones en la intensidad de la tinción, debido a que la sal de tetrazolio permite determinar la localización y naturaleza de las alteraciones en los tejidos vivos de las semillas (ISTA 2014), que evidencia

o no la actividad respiratoria y con ello, la viabilidad de la semilla. Por lo tanto, el color rojo en los embriones es un indicador positivo de la viabilidad de las semillas, mientras que aquellas regiones débilmente coloreadas en algunas partes del embrión indican que las células presentan una disminución en la actividad respiratoria (Craviotto 2008).

3.3. Tasa de Imbibición de semillas

Para la estimación de la tasa de imbibición de *E cordifolia* se observa una interacción altamente significativa en la interacción de la medición y las procedencias (TIMB x PROC; $p = 0,0097$).

Para la procedencia de Cochamó, se puede observar un incremento significativo del contenido de humedad hasta las 48 horas de remojo, mientras que, para las otras procedencias evaluadas, tras 24 horas de imbibición se alcanza el máximo contenido de humedad de las semillas (Figura 12 y Tabla 4).

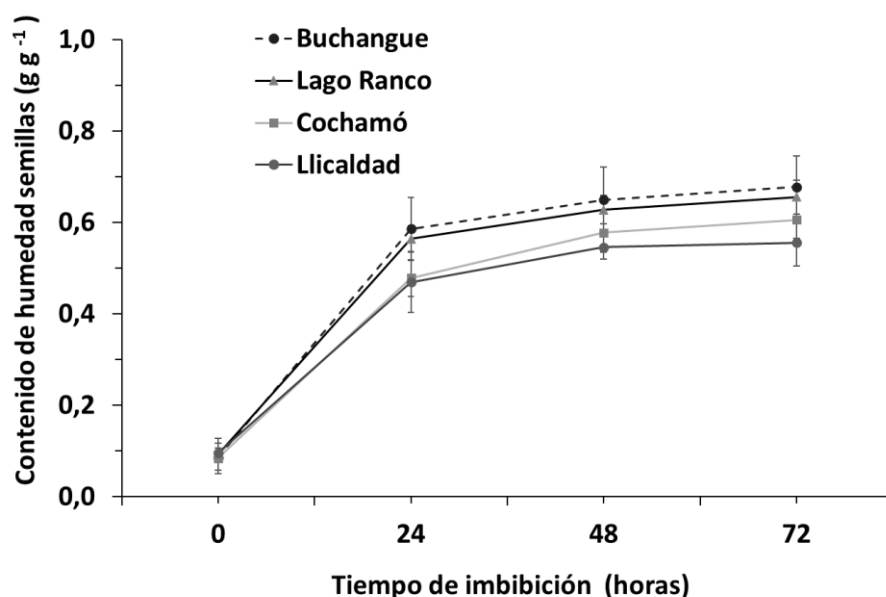


Figura 12 . Incremento del contenido de humedad de semillas de *Eucryphia cordifolia* según tiempo de imbibición. Símbolos y barras indican valores promedio \pm desviación estándar.

Tabla 4 Tasa de imbibición de *Eucryphia cordifolia* en cuatro procedencias evaluadas. Se indica valores promedio \pm desviación estándar. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas entre tiempos de imbibición para cada procedencia. Letras mayúsculas distintas indican diferencias entre procedencias para cada tiempo de imbibición.

Procedencia	Contenido de humedad ($\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$) de semillas, según tiempo de imbibición (hrs)			
	0	24	48	72
Buchangue	0,085 \pm 0,011 A-b	0,469 \pm 0,067 A-a	0,545 \pm 0,026 AB-a	0,556 \pm 0,051 A-a
Lago Ranco	0,092 \pm 0,035 A-b	0,564 \pm 0,029 A-a	0,627 \pm 0,031 A-a	0,655 \pm 0,037 A-a
Cochamó	0,084 \pm 0,033 A-c	0,478 \pm 0,040 A-b	0,578 \pm 0,044 B-ab	0,606 \pm 0,041 A-a
Llicaldad	0,095 \pm 0,011 A-b	0,469 \pm 0,067 A-a	0,545 \pm 0,026 A-a	0,556 \pm 0,051 A-a

Para la especie *C. paniculata*, no se observaron diferencias significativas en la interacción del tiempo de imbibición y la procedencia (TIMB x PROC; $p = 0,652$), observando un efecto altamente significativo en el tiempo de imbibición (TIMB; $p < 0,0001$), indistintamente de la procedencia, donde tras 48 horas de imbibición no existe un incremento significativo en el contenido de humedad de las semillas (Figura 13).

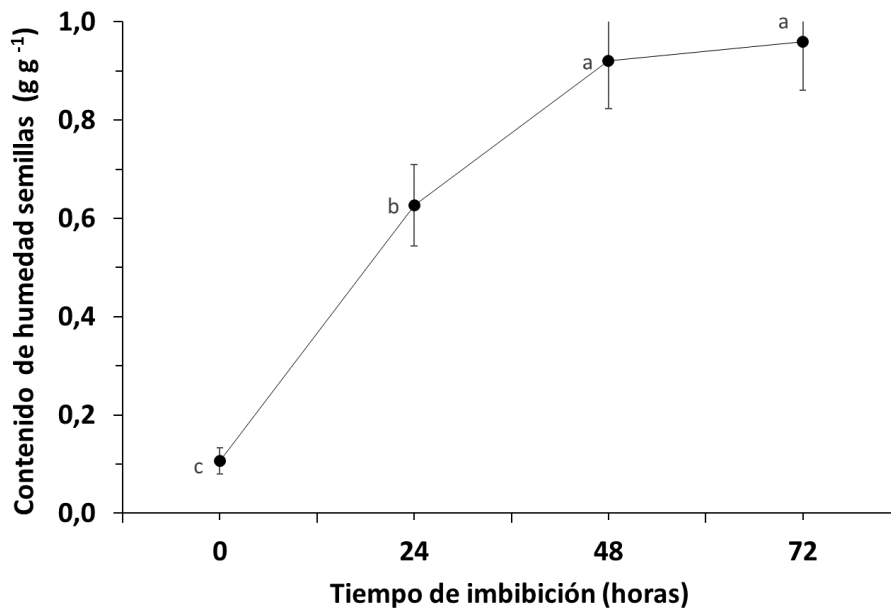


Figura 13. Incremento del contenido de humedad de semillas de *Caldcluvia paniculata* según tiempo de imbibición. Símbolos indican valores promedio \pm desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas.

La imbibición permite que un mayor número de semillas alcance rápidamente el mismo nivel de humedad y active el aparato metabólico relacionado con el proceso pre-germinativo (Burgas & Powell 1984).

Es por ello, que mediante el proceso de imbibición de la semilla en agua o en soluciones diversas, mejora su calidad fisiológica a través de la uniformidad en el porcentaje de germinación (Artola *et al.* 2003, Sánchez *et al.* 2007).

Lo que justifica los tratamientos pre-germinativos durante 48 horas de remojo para lograr

uniformidad en el porcentaje de germinación, evitando perder material vegetal por exceso de humedad durante los tratamientos pre-germinativos.

3.4. Ensayo de germinación

Para *E. cordifolia*, se observó un efecto significativo de la interacción entre la procedencia y los tratamientos pre-germinativos aplicados (PROC x TRAT) a partir del día 19 desde la siembra (todos los $p \leq 0,0442$), para los 60 días desde la siembra solo se observaron diferencias significativas entre los tratamientos pre-germinativos para una de las procedencias. Por otro lado, entre los tratamientos a diferentes concentraciones con ácido giberélico no existen diferencias significativas.

Para la procedencia de Buchangue, solo se observaron diferencias significativas entre los tratamientos con aplicación de ácido giberélico respecto a la no

aplicación, (todos los $p < 0,0001$), con un valor promedio de germinación del $66,5 \pm 1,8$ % al término de las evaluaciones (Figura 14a).

Para la procedencia Lago Ranco, a partir del día 30 desde la siembra hasta el término de las evaluaciones (día 60 desde la siembra), no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos pre-germinativos aplicados (todos los $p > 0,09$), con promedio de germinación del $58,2 \pm 7,6$ % (Figura 19b).

Mientras que, para la procedencia de Cochamó, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos pre-germinativos aplicados (todos los $p \geq 0,1$), alcanzando un promedio de germinación del $40,3 \pm 5,5$ % al término de las evaluaciones (Figura 19 c).

Por último, para la procedencia de Llicaldad, a partir del día 50 desde la siembra hasta el término de las evaluaciones, no se observó un efecto significativo de los tratamientos pre-germinativos aplicados (todos los $p \geq 0,057$), alcanzando un promedio de germinación del $43,1 \pm 4,3$ % al término de las evaluaciones (Figura 19 d).

Experimentar con hormonas exógenas han demostrado que la dormancia de muchas semillas puede ser superada mediante la aplicación de giberelinas (Barcelo *et al.*1983).

Las hormonas más utilizada en ensayos de germinación es el ácido giberélico, con un aplicación en forma exógena se ha podido obtener resultados exitosos en

la inducción de germinación de muchas semillas en latencia (Herrera 1984, Powell 1987).

Las giberelinas pueden causar el inicio de la germinación en semillas que generalmente requieren de estratificación fría -húmeda (Jacobs 1979).

Las concentraciones de ácido giberélico evaluadas, pudieran acelerar el proceso de germinación para algunas de las procedencias evaluadas, sin embargo, no necesariamente afectaría la capacidad germinativa alcanzada.

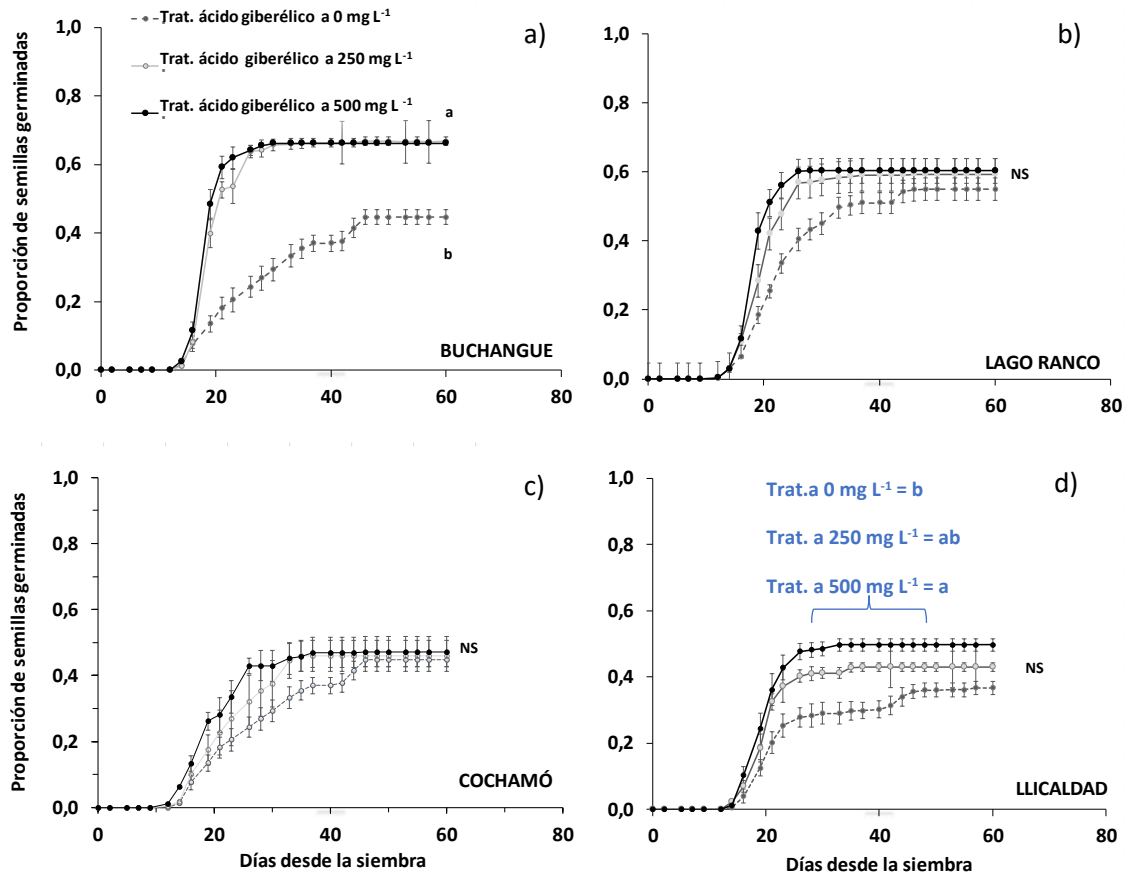


Figura 14. Germinación de *Eucryphia cordifolia*, según tratamientos pre-germinativos y procedencias evaluadas. Símbolos indican valores promedio \pm error estándar. Letras indican diferencias significativas entre tratamientos pre-germinativos para cada procedencia. NS: diferencias no significativas entre tratamientos pre-germinativos aplicados para cada instancia de medición.

Para *C. paniculata*, no se observó un efecto significativo de la interacción entre procedencia y los tratamientos pre-germinativos aplicados (PROC x TRAT; todos los $p > 0,1416$), para ninguna de las mediciones realizadas. Observando un efecto significativo de la procedencia desde el día 19 desde la siembra (PROC; $p < 0,0186$; Figura 15) y un efecto altamente significativo en los tratamientos pre-

germinativos entre los días 16 al 42 desde la siembra (TRAT; $p < 0,0230$; Figura 16) indistintamente de la procedencia, observando que los tratamientos con aplicación de ácido giberélico mantienen los mayores valores de germinación dentro de dicho periodo. Sin embargo, estas diferencias no se mantienen al término de las evaluaciones, con un promedio de germinación del $9,8 \pm 4,6\%$ indistinto del tratamiento pre-germinativo aplicado.

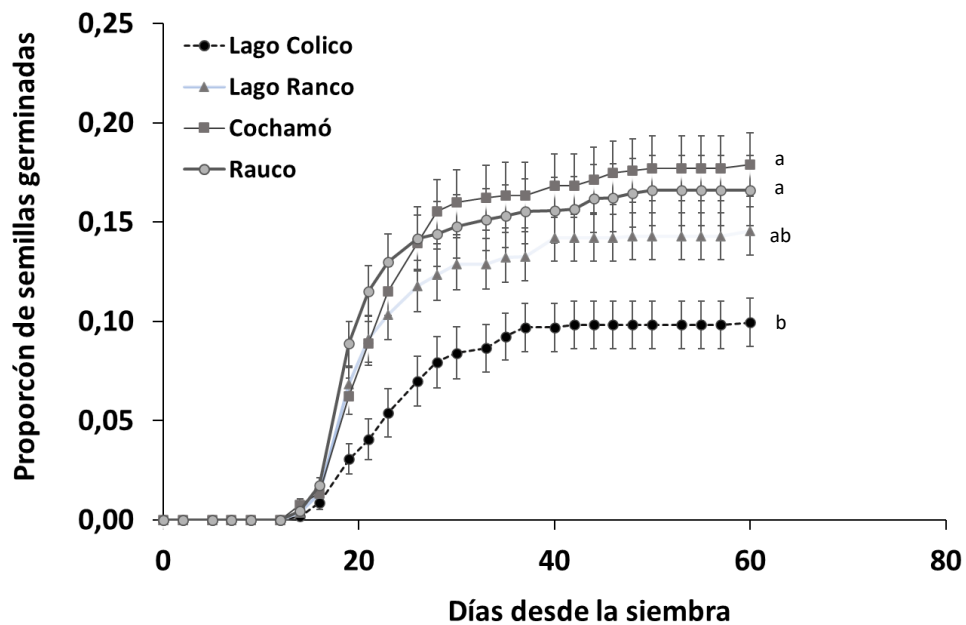


Figura 15. Germinación de *Caldcluvia paniculata* según procedencias evaluadas. Símbolos indican valores promedio \pm desviación estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre las procedencias evaluadas al término del ensayo de germinación.

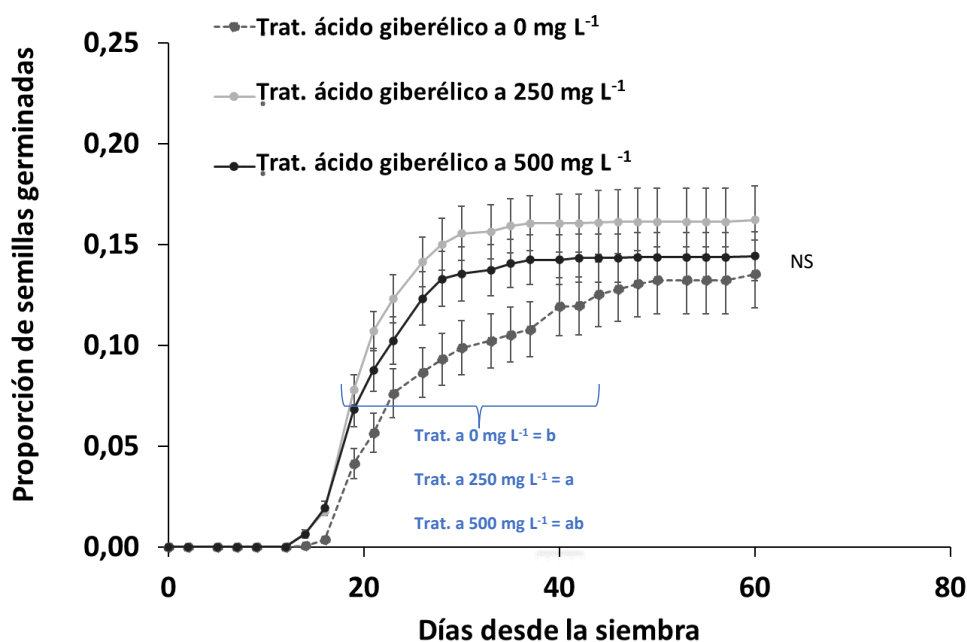


Figura 16. Germinación *Caldcluvia paniculata* según tratamientos pre-germinativos aplicados. Símbolos indican valores promedios \pm desviación estándar. NS: diferencias no significativas entre tratamientos pre-germinativos aplicados para cada instancia de medición.

Al término de las evaluaciones, se observó la mayor germinación en la procedencia Cochamó, con un promedio de $17,9 \pm 6,6$ %, mientras que la procedencia Lago Colico, presentó la menor germinación con un promedio del $9 \pm 4,9$ %, siendo respectivamente las procedencias con mayor y menor viabilidad (Tabla 2).

Para *C. paniculata*, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos con aplicación de ácido giberélico a lo largo del ensayo. Sin embargo, la aplicación de ácido giberélico, pudiera acelerar el proceso de

germinación, sin afectar la capacidad germinativa alcanzada al final del ensayo. A nivel operacional, la aplicación del tratamiento pre-germinativo correspondiente a 250 mg L⁻¹ de ácido giberélico, permitiría optimizar el uso de insumos para la aplicación de los tratamientos pre-germinativos.

IV. CONCLUSIÓN

Todas las procedencias de *E. cordifolia* presentan valores muy altos de viabilidad superando el 92%, sin embargo, el promedio más alto de germinación alcanzo el 66% para la procedencia de Buchangue, que, a su vez, la imbibición de semillas sometidas a tratamientos pre-germinativos con ácido giberélico germinaron más rápido y alcanzaron un promedio más alto, que el tratamiento con solo agua. Para tratamientos futuros considerar el aumento de la concentración de ácido giberélico y con eso averiguar si es posible alcanzar valores promedios más alto en la germinación.

Caldcluvia paniculata, presenta diferencias en el peso de las semillas entre las procedencias evaluadas, siendo a su vez semillas de menor tamaño comparadas con los resultados que reportan estudios previos. Esto pudiera afectar la densidad de siembra y la cantidad de semillas requeridas durante un programa de viverización. En relación con la viabilidad, se observaron diferencias significativas entre procedencias evaluadas, siendo Cochamó la procedencia con mayor porcentaje de viabilidad y Lago Buchangue con la menor viabilidad. No obstante, la germinación alcanzó valores muy por debajo a los observados en la viabilidad.

La procedencia tiene un efecto importante en la calidad de las semillas para ambas especies. Donde, los tratamientos pre-germinativos con ácido giberélico pudieran acelerar el proceso de germinación de ambas especies, y no

necesariamente afectar la capacidad germinativa alcanzada. Acelerar el proceso de germinación, permitiría homogeneizar el tamaño de plántulas con el cual se iniciarían los manejos de riego y fertilización en la fase de pleno crecimiento, lo que a su vez ayudaría a reducir el número de plantas suprimidas, y que, por ende, que no alcanzarían a cumplir con determinados atributos morfo-fisiológicos para su establecimiento en campo.

Las instancias de extensión y transferencia técnica podrían ser de ayuda para reducir la brecha de conocimiento señalada por los viveros nacionales, esto permitiría una mejor implementación operativa de los tratamientos pre-germinativos, y así reducir la pérdida de semillas que se pudiera ocasionar por una elección o aplicación incorrecta de estos tratamientos en la fase de germinación.

V. BIBLIOGRAFÍA

1. Acevedo, M., Álvarez, C., Kasten, R., Bannister, J., Cartes, E. y González, M. (2021). Native Plant Production in Chile. Is It Possible to Achieve Restoration Goals by 2035? 10, 71. Land.
2. Altamirano, A., y Lara, A. (2010). Deforestación en ecosistemas templados de la precordillera andina del centro-sur de Chile. *Bosque Valdivia*, 31(1), 53-64.
3. Araya, E., Gómez, L., Hidalgo, N. y Valverde, R. (2000). Efecto de la luz y del ácido giberélico sobre la germinación in vitro de Jaul (*Alnus acuminata*). *Agronomía Costarricense*. 24(1),75-80.
4. Aráoz, S., Del Longo, O., Karlin O. (2004). Germinación de semillas de *Zizyphus mistol Grisebach III*. Correlaciones paramétricas del tamaño y peso de drupas, endocarpos y semillas con la germinación y el vigor. *Mult.* 13(2):51–56.
5. Armesto, J. J., Smith-R, C., León, P. y Arroyo, M. T. K. (1992). Biodiversidad y conservación del bosque templado en Chile. *Ambiente y Desarrollo. Science*, 8, 19-24.
6. Armesto, J. J., Rozzi, R., Smith-Ramírez, C., & Arroyo, M. T. K. (1998). Conservation targets in South American temperate forests. *Science*, 282, 1271-1272.
7. Artola, G.; Carrillo, C. & García, G. (2003). Hydropriming: a strategy to increase *Lotus corniculatus L.* seed vigor. *Seed Sci.Tech.* 31:455-463.
8. Atkinson, R., Thomas, E., Cornelius. J., Zamora, R., & Franco, M. (2018) Fit for purpose seed supply systems for the implementation of landscape restoration under Initiative 20 x20: an analysis of national seed systems in Mexico, Guatemala, Costa Rica, Colombia, Peru, Chile and Argentina. World Resources Institute, Bioversity International, ICRAF, Lima, Perú.

9. Azcón-Bieto, J., y Talón, M., (2000). Fundamentos de fisiología vegetal. McGraw-Hill Interamerican.
10. Balaguera, E.; Deaquiz, G. y Álvarez, H. (2009). Plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) provenientes de semillas embebidas en diferentes soluciones de giberelinas (GA3). Agron. Colomb. 27(1):57-64.
11. Bannister, J., Donoso, P., y Mujica, R., (2016). La silvicultura como herramienta para la restauración de bosques templados. Bosque Valdivia. 37(2), 229-235.
12. Bannister, J., González, M., Little, C., Gutiérrez, A., Donoso, P., Mujica, R. *et al.* (2013). Experiencias de restauración en los bosques nativos del sur de Chile: Una mirada desde la Isla Grande de Chiloé. Revista Bosque Nativo. 52, 35-43.
13. Bannister, J. R., Vargas-Gaete, R., Ovalle, J. F., Acevedo, M., Fuentes, A., Donoso, P. J., & Smith-Ramírez, C. (2018). Major bottlenecks for the restoration of natural forests in Chile. Restoration Ecology. 26(6), 1039-1044.
14. Barcelo, J., Nicolas, G., Sabarte, B y Sanchez, R. (1983) Fisiología vegetal. Madrid, España. Ediciones Mundi-Prensa 637p.
15. Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (1977). Seed and seedling ecology of *Opuntia compressa* in Tennessee cedar glades. J. Tennessee Acad. Science. 52, 118-122.
16. Bell, D. T., Vlahos, S. & Bellairs, S. M. (1990). Seed ecology in relation to reclamation: lessons from mined lands in Western Australia. 1 Proceedings of the Ecological Society of Australia. 6, 531-535.
17. Bonilla, M. (2014). Variación del peso y viabilidad de las semillas de *Pinus tropicalis* para diferentes procedencias. Revista Cubana de Ciencias Forestales 2(1).

18. Bonner, F. T., Vozzo, J. A., Elam, W. W & Land. S. B. (1994). Tree Seed Technology Training Course. Instructor's Manual. USDA, Forest Service. General Technical Report SO-106. New Orleans, Louisiana. 160.
19. Brown A.H.D., & Hardner C.M (2000). Sampling the gene pools for forest trees for ex situ conservation. En: Young A, Boshier D, Boyle T. Forest conservation genetic, principles and practice. CSIRO Publishing, CABI Publishing, Melbourne, Australia. 185–196.
20. Broadhurst, L., Driver, M., Guja, L., North, T., Vanzella, B., Fifield, G., Bush, D. (2015). Seeding the future: the issues of supply and demand in restoration in Australia. *Ecol. Man. and Rest.* 16, 29-32.
21. Bouwmeester, H. J., & Karssen, C.M. (1993). The effect of environmental conditions on the annual dormancy pattern of seeds of *Spergula arvensis*. *Canadian Journal of Botany.* 71,64-73.
22. Burgas, R. & Powell, A. (1984). Evidence for repair processes in the invigoration of seeds by hydration. *Ann. Bot.* 53:753-757
23. Cartes, E.; Álvarez, C.; Acevedo, M.; González, M.; Urbina, A.; & León, P. (2022). Pre-Germination Treatments at Operational Scale for Six Tree Species from the Sclerophyll Forest of Central Chile. *Plants* 2022. 11, 608.
24. Craviotto, M., Arango, M., & Gallo, C. (2008). Topographic tetrazolium test for soybean.
25. CONAF (Corporación Nacional Forestal, Chile), CONAMA (Comisión Nacional del Medio Ambiente, Chile), Banco Internacional de Reconstrucción y Fomento, Universidad Austral de Chile, Pontificia Universidad Católica de Chile, Universidad Católica de Temuco. (1999). Catastro y Evaluación de los Recursos Vegetacionales Nativos de Chile. Informe Nacional con Variables Ambientales. Santiago, Chile.
26. Conservación Internacional. (2023). Conservación Internacional. <https://www.conservation.org>

27. Consorcio de Desarrollo Tecnológico Apícola. (2020). Desarrollo apícola regional: potencial melífero y su vinculación con el incremento productivo frutícola. 3-74.
28. Cordero, C.; Vascon. (2020). P. Actualización de la Contribución Determinada a Nivel Nacional (NDC) 2020 de Chile; Ministerio del Medio Ambiente: Santiago, Chile.
29. Derkx, M.P.M. & Karssen, C. M. (1994). Are seasonal dormancy patterns in *Arabidopsis thaliana* regulated by changes in seed sensitivity to light, nitrate and gibberellin?. *Annals of Botany*. 3.129-136.
30. Díaz, I., Armesto, JJ., Reid, S., Sieving, K., & Willson, MF. (2005). Linking forest structure and composition: avian diversity in successional forests of Chiloe' Island, Chile. *Biological Conservation* 123 (1), 91-101.
31. Donoso, C. (1993). Bosques templados de Chile y Argentina: variación, estructura y dinámica. Universitaria, Santiago, Chile.
32. Donoso C. (2013). Las especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina. Autoecología. Segunda edición. Valdivia. Chile. 687.
33. Donoso S. C., Escobar, B., y González C. M. (1993). Técnicas de vivero y plantación para ulmo (*Eucryphia cordifolia*). Santiago, Chile: Chile Forestal.
34. Donoso Zegers. (2006). Las especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina: autoecología. Marisa Cuneo, ediciones.
35. Doria, J. (2010). Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos Tropicales*, 31(1)

36. Echeverría, C., Coomes, D., Salas, J., Rey-Benayas, J.M., Lara, A. & Newton, A. (2010). Rapid deforestation and fragmentation of Chilean Temperate forest. *Biological Conservation*, 130, 481-494.
37. Figueroa, J., Armesto, J., y Hernandez, J. F. (1996). Estrategias de germinación y latencia de semillas en especies del bosque templado de Chiloé, Chile. Departamento de Biología, Laboratorio de Sistemática y Ecología Vegetal, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
38. Figueroa, J A., y Jaksic, F M. (2004). Latencia y banco de semillas en plantas de la región mediterránea de Chile central. *Revista chilena de historia natural*. 77(1), 201-215.
39. García, N., y Ormazábal, C. (2008). Árboles nativos de Chile. Guía de reconocimiento. Corporación Chilena de la Madera, Chile.
40. Gann, G. D., McDonald, T., Walder, B., Aronson, J., Nelson, C. R., Jonson, J. J., & Hallett, J. G. (2019). International principles and standards for the practice of ecological restoration. Second edition. *Restoration Ecology*, 27(S1),1-101.
41. Galetti M, Guevara R, Côrtes MC, Fadini R, Von Matter S, Leite AB, Ribeiro T, Carvalho CS, Collevatti RG, Pires MM, Guimarães PR, Brancalion PH, Ribeiro MC, Jordano P. (2013). Functional extinction of birds drives rapid evolutionary changes in seed size. *Sci*. 340(6136):1086–1090.
42. Gibson, A. L., & Nelson, C. R. (2017). Comparing provisional seed transfer zones for a commonly seeded grass, *Pseudoroegneria spicata*. *Natural Areas Journal*, 37, 188-199.
43. Grime, J.P., Mason, G., Curtis, A. V., Rodman, J., Band, S. R., Mowforth, M. A. G., Neal, A. M. & Shaw, S. (1981). A comparative study of germination characteristics in a local flora. *Journal of Ecology*. 69, 1017-1059.

44. Fors, A. (1967). Manual de Selvicultura. Instituto Nacional de Desarrollo y Aprovechamiento Forestal. 4a ed. La Habana.
45. Hartmann, H., Kestner, D. (1982). Propagación de plantas. Mexico.CECSA. p11-223
46. Herrera, M. (1984) Efectos de la temperatura y la aplicación de ácido giberélico, BAP, cinetina y ethefla a semillas de espárgos (*Asparagus officinalis L.*) variedad "Mary Washington" sobre la germinación y desarrollo de plántulas . Tesis Ingeniero Agrónomo Quillota, Chile. Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Agronomía, Departamento de Horticultura. 105p.
47. Hoces, A. (1988). Efecto de la textura del suelo, tamaño de la semilla y profundidad de siembra en la emergencia de la semilla de pino oregon *Pseudotsuga menziesii* (Mirb) Franco. Tesis de grado Universidad de Concepción Fac. Cs. Agr. Vet. y For. Chillan, Chile.
48. INFOR (Instituto Forestal, CL). (2012). Análisis de la degradación forestal en el marco de REDD+. (Eds. Rojas, Y. & Barros, S.).
49. ISTA International Seed Testing Association. (2014). International Rules for Seed Testing. Suiza: Bassersdorf.
50. Jacobs, P. (1979). Plant hormones and plant development. Cambridge, New York, USA. Cambridge University Press. 339p.
51. León, L. P., Bustamante, S. M., Nelson, C., Alarcón, D., Hasbún, R., Way, M., Pritchard, H., & Armesto, J. (2020). Lack of adequate seed supply is a major bottleneck for effective ecosystem restoration in Chile: friendly amendment to Bannister et al. (2018). Restoration Ecology.
52. Montenegro, G. (2000). Chile, Nuestra Flora Útil. Guía de Uso Apícola, Alimentario, Medicina, Folclórico, Artesanal y Ornamental. Colección en Agricultura. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.

53. Montenegro, G., y Ortega, X. (2013) Innovación y valor agregado en los productos apícolas. Diferenciación y nuevos usos industriales. Apicultura. Informe de Experto. Oficina De Estudios y Políticas Agrarias. 3-6.
54. Pérez., M., y Gómez, G., J.M. (2003). Importancia e interpretación de la latencia y germinación de semillas en ambientes naturales.4-5.
55. Pérez, C., Carrillo, G., Vidal, E., y Ortiz, E. (2016). Efecto de la imbibición en la calidad fisiológica de semillas de jitomate. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 7(7), 1765-1773.
56. Powell, E. (1987). Hormonal aspects of bud and seeds dormancy in temperature-zone woody plants. HortScience 22(5):845-849.
57. Probert, R. J., Dickie, J.D., & Hart, M. R. (1989). Analysis of the effect of cold stratification on the germination response to light and alternating temperatures using selected seed populations of *Ranunculus sceleratus* L. Journal of Experimental Botany 40,293-301.
58. Randall, W. K., & Berrang, P. (2002). Washington tree seed transfer zones. Washington Department of Natural Resources, Olympia, Washington D.C.
59. Rendón, J., García, B., Cuesta Y.y Areas, Y., (2002). Correlación entre el tamaño de la semilla, la dormancia, la germinación y el vigor de las plántulas de *Calophyllum pinetorum*. Rev. Jar. Bot. Nac. 23(1):75-84
60. Rodriguez, R., Marticorena, C., Alarcón, D., Baeza, C., Cavieres, L, Finot, V., Fuentes, N., Kiessling, A., Mihoc, M., Pauchard, A., Ruiz, E., Sanchez, P., y Marticorena, A. (2018). Catálogo de las plantas vasculares de Chile. Gayana. Botánica. 75(1), 1-430.
61. Rodriguez, R., Ruiz, E., y Elissetche, J. (2005). Árboles en Chile. 62-68. Editorial Universidad de Concepción, Santiago, Chile.

62. Sánchez, J.; Mejía, A., Hernández, A., Peña, A. y Carballo, C. (2007). Acondicionamiento osmótico de semillas de tomate de cáscara. *Agric. Téc. Méx.* 33:115-123.
63. Sewell, A.; Van Der Esch, S. (2020). Löwenhardt, H. Goals and Commitments for the Restoration Decade; PBL Publishers: The Hague, The Netherlands.
64. Suárez D., y L. M. Melgarejo. (2010). Biología y germinación de semillas. In: Melgarejo, L. M. 13-24. Experimentos en Fisiología Vegetal. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá Colombia.
65. Sharma, R. K. & Amritphale, D. (1989). Effect of light, seed transfer and potassium salts on germination of skotodormant seeds of *Hygrophila auriculata* (Schumanch.) Haines, Indian. *Journal of Experimental Biology.* 27,822-823.
66. Urgiles, N., Hurtado, L., Eras, V. H., Muñoz, J., Encalada, M., y Quichimbo, L. (2021). Aplicabilidad de las Normas ISTA: Análisis de la calidad de semillas en especies forestales en el Sur del Ecuador. *Bosques Latitud Cero*, 10(2). 44-57.
67. Veselova, T. V., & Veselovsky, D. V. A. (2003). Investigation of atypical germination changes during accelerated ageing of pea seeds. *Seed Sci. Tech.* 31:517-530.
68. Vidal, J. y Rojas, R. (2014). Propagación de flora nativa experiencias y relatos desde el sur de Chile, Corporacion Instituto de Ecologia y Biodiversidad diciembre 2014, Santiago, Chile, Eds Javiera Diaz, Carolina Masoli, Silvia Lazzarino.
69. Villiers, A. (1972). Seed dormancy. In T. Kozlowski, *Seed biology*, New York: Academic Press Vol. (2). 220-282.
70. Wulff, R.D. (1986). Seed size variation in *Desmodium paniculatum*: I. Factors affecting seed size. *The J. Ecol.* 74(1):87-97.

