

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA



**PROPAGACIÓN SEXUAL Y DESCRIPCIÓN MORFOANATOMICA DEL
PROCESO GERMINATIVO DEL ÑIRRE (*NOTHOFAGUS ANTARCTICA*)**

POR

PAULA FRANCISCA AGUAYO MIRANDA

**MEMORIA PRESENTADA A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO.**

CHILLAN – CHILE
2024

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**PROPAGACIÓN SEXUAL Y DESCRIPCIÓN MORFOANATOMICA DEL
PROCESO GERMINATIVO DEL ÑIRRE (*NOTHOFAGUS ANTARCTICA*)**

POR

PAULA FRANCISCA AGUAYO MIRANDA

**MEMORIA PRESENTADA A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO.**

**CHILLÁN – CHILE
2024**

Aprobada por:

Profesor Asistente, Angelica Urbina P.
Licenciada en Biología.

Guía

Profesor Asociado, J. Alberto Pedreros
Ing. Agrónomo, Ph. D.

Asesor

Profesor Asociado, Gonzalo Silva A.
Ing. Agrónomo, Ph. D.

Asesor

Profesor Asociado, Guillermo Wells M.
Ing. Agrónomo, M. Sc.

Decano

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
Resumen	1
Summary.....	2
Introducción	2
Materiales y Métodos	5
Resultados y Discusión	9
Conclusiones	24
Referencias	25

INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

		Página
Figura 1	a. Fruto alado. b. Fruto trialado. c. Cúpula en <i>Nothofagus antarctica</i>	14
Figura 2	a. Fruto y semilla con corte laminar en el pericarpio. b. Corte transversal de fruto y semilla. c. Corte transversal de fruto y semilla. d. Corte transversal pericarpio. e. Embrión. F. Cotiledones en <i>Nothofagus antarctica</i>	15
Figura 3	a. Fruto. b. Fruto e hipocótilo c. Aparición de cotiledones. d. Desprendimiento de cotiledones desde pericarpio en <i>Nothofagus antarctica</i>	16
Figura 4	a. Cotiledones. b. Corte transversal cotiledón. c. Pared de cotiledones en cara abaxial. d. Complejo estomático paracítico en <i>Nothofagus antarctica</i>	17
Figura 5	a. Primeros estadios de desarrollo. b. Caliptra. c. Corte transversal raíz. d. Zona pilífera en <i>Nothofagus antarctica</i> .	18
Figura 6	a. Punto de inserción cotiledones. b. Hipocótilo. c. Pelo glandular. d. Pelos glandulares y filiformes en superficie de hipocótilo. e. Pelo filiforme en <i>Nothofagus antarctica</i>	19
Figura 7	a. Cotiledones y primordios foliares. B. Primordios foliares. c. Tricomas. d. Células en superficie de primordios foliares en <i>Nothofagus antarctica</i>	20
Figura 8	a. Elongación epicotilo. b. Primordios foliares. c. Epicotilo. d. Pelos filiformes en epicotilo en <i>Nothofagus antarctica</i> ...	21

Figura 9	a. Primer par de hojas. b. Hoja. c. Nervadura de la hoja. d. Superficie hoja. e. Corte transversal hoja. f. Elongación raíz primaria y desarrollo de raíces secundarias en <i>Nothofagus antarctica</i>	23
Figura 10	a. Plántula con tercer par de hojas. b. longitud de la plántula. c. Cotiledones y hojas en su cara abaxial en <i>Nothofagus antarctica</i>	24
Tabla 1	Periodos de aplicación de ácido sulfúrico (H_2SO_4) y estratificación fría a semillas de ñirre (<i>Nothofagus antarctica</i>)	6
Tabla 2	Temperaturas del agua en el lavado y aplicación de ácido giberélico (AG3) a distintas concentraciones en semillas de ñirre (<i>Nothofagus antarctica</i>)	7
Tabla 3	Efecto de la estratificación fría y la escarificación con ácido sulfúrico (H_2SO_4) sobre el porcentaje de germinación de semillas de ñirre (<i>Nothofagus antarctica</i>).	10
Tabla 4	Índice de velocidad de germinación para escarificación acida con ácido sulfúrico (H_2SO_4) y estratificación fría a semillas de ñirre (<i>Nothofagus antarctica</i>)	11
Tabla 5	Efecto del lavado con agua a distintas temperaturas y aplicación de ácido giberélico (AG3) sobre el porcentaje de germinación de semillas de ñirre (<i>Nothofagus antarctica</i>)	12
Tabla 6	Índice de velocidad de germinación para lavado con agua y aplicación de ácido giberélico (AG3) en semillas de ñirre (<i>Nothofagus antarctica</i>)	13

PROPAGACION SEXUAL Y DESCRIPCION MORFOANATOMICA DEL PROCESO GERMINATIVO DEL ÑIRRE (*NOTHOFAGUS ANTARCTICA*)

SEXUAL PROPAGATION AND MORPHOANATOMICAL DESCRIPTION OF THE GERMINATIVE PROCESS OF ÑIRRE (*NOTHOFAGUS ANTARCTICA*)

Palabra índice adicionales: germinación, estratificación, escarificación, ácido giberélico, ácido sulfúrico.

RESUMEN

Nothofagus antarctica, comúnmente conocido como ñirre, es la especie con mayor amplitud ecológica en Chile, abarcando una franja geográfica de aproximadamente 2.300 km. Esta especie, monoica y caducifolia se adapta a una amplia variedad de biotipos extremos, alcanzando alturas que van desde los 60 cm hasta los 25 m; además, es reservorio de productos forestales no madereros, con aplicaciones en usos ornamentales, comestibles y medicinales, además de ofrecer diversos servicios medioambientales. A pesar de su versatilidad, presenta una baja capacidad de dispersión, y su propagación es predominantemente asexual. El objetivo es evaluar el efecto de distintos tratamientos en la germinación de semillas de *N. antarctica* y describir los cambios morfoanatomicos durante el proceso germinativo. Para ello, se realizaron dos experimentos de germinación, en los cuales se evaluaron tanto el porcentaje de germinación como la velocidad de germinación. El primer experimento consistió en escarificación con ácido sulfúrico entre 0 y 20 minutos, junto con una estratificación fría entre 30 y 100 días. En el segundo experimento, se lavaron las semillas con agua a temperaturas de 25 °C y 50 °C, y se aplicó ácido giberélico (AG3) a distintas concentraciones. Los resultados mostraron que no hubo diferencias significativas en los porcentajes de germinación; sin embargo, se observó que un mayor tiempo de exposición al frío incrementó el índice de velocidad de germinación, mientras que el lavado de semillas con agua a 50 °C ralentizó la velocidad de germinación. Además, el crecimiento de las semillas fue asincrónico y mediante microscopia electrónica de barrido se identificaron

diversas estructuras y características anatómicas relevantes para el proceso germinativo

SUMMARY

Nothofagus antarctica, commonly known as ñirre, is the species with the greatest ecological amplitude in Chile, covering a geographic range of approximately 2,300 km. This species, monoecious and deciduous, adapts to a wide variety of extreme biotypes, reaching heights ranging from 60 cm to 25 m; it is also a reservoir of non-timber forest products, with applications in ornamental, edible and medicinal uses, in addition to offering various environmental services. Despite its versatility, it has a low dispersal capacity, and its propagation is predominantly asexual. The objective of this research is to identify an effective method for the sexual propagation of *N. antarctica* seeds, as well as to describe the morphoanatomical changes that occur during the germination process. For this purpose, two germination experiments were carried out, in which both germination percentage and germination speed were evaluated. The first experiment consisted of scarification with sulfuric acid between 0 and 20 minutes, together with cold stratification between 30 and 100 days. In the second experiment, seeds were washed with water at temperatures of 25 °C and 50 °C, and gibberellic acid (AG3) was applied at different concentrations. The results showed that there were no significant differences in germination percentages; however, it was observed that longer exposure to cold increased the germination speed index, while washing seeds with water at 50 °C slowed the germination speed. In addition, seed growth was asynchronous, and scanning electron microscopy identified various structures and anatomical characteristics relevant to the germination process.

INTRODUCCIÓN

El género *Nothofagus*, que significa falsa haya (Hoffman, 2005), está formado por plantas leñosas, micorrícicas, que no resisten el fuego y tienen baja capacidad de dispersión. Existen aproximadamente 40 especies en todo el planeta las cuales están distribuidas en Sudamérica y Australasia con un 25% y 75% respectivamente

(Ramírez, 1987). En Chile este género domina los bosques templados y subantárticos (Donoso, 1987), donde existen 11 especies (Ramírez, 1987), entre ellas *Nothofagus antártica*, más conocido como ñirre, que es el que alcanza la mayor amplitud ecológica de este género en Sudamérica (Donoso, Steinke y Premoli, 2006).

La especie se encuentra en Chile desde la Región del Maule en el Cerro Imposibles de la precordillera Andina de la comuna de Molina, provincia de Curicó, hasta la Isla de Cabo de Hornos en el límite sur, en la provincia de Antártica Chilena, Región de Magallanes, abarcando aproximadamente 2.300 kilómetros (Ormazabal y Benoit, 1987). En el caso de Argentina, se presenta en las provincias de Neuquén, Río Negro y Chubut (Vidal y Premoli, 2004).

El ñirre es una especie monoica caducifolia que se adapta a biotipos extremos; como bajas temperaturas y suelos de mala calidad, modificando su forma de vida y cuerpo vegetativo, encontrándose en forma de subarbusto de 60 cm a un árbol de 15 metros (Rodríguez *et al.*, 1983; Donoso y Landrum 1974), aunque pueden encontrarse de hasta 25 metros en suelos profundos y con buen drenaje (Salinas *et al.*, 2015). Debido a su gran variación morfológica se han descrito tres morfotipos, uno arbóreo que crece en condiciones óptimas en los llamados "ñadis" del Valle Central, otro caméfito de lugares turbosos y un tercero intermedio que presenta un aspecto arbustivo achaparrado (Ramírez *et al.*, 1985).

La corteza es grisácea y rugosa con grietas de forma irregular. Las hojas son variables y a veces similares a las de otras especies del género *Nothofagus* (Donoso *et al.* 2006), estas son simples, alternas, de 1 a 4 cm, pecioladas: lámina aovada, con la base más o menos oblicua; margen lobulado y ondulado, irregularmente dentado (Rodríguez *et al.*, 1983). Entre los meses de abril y mayo comienza el receso invernal, y las hojas que durante el periodo vegetativo eran verdes, comienzan a cambiar a un tono rojizo y anaranjado (Salinas *et al.*, 2017). Sus flores son pequeñas y unisexuales; las femeninas miden de 5 a 6 milímetros, son cúpulas de 4 valvas rodeadas de escamas rojizas y se encuentran reunidas en grupos de 3; las masculinas son cortamente pediceladas, solitarias, con 10 estambres. Sus frutos

están formados por 3 pequeñas nueces, las cuales 2 son triangulares y rodean a una plana que se encuentra en el centro (Hoffman, 2005).

La floración ocurre desde octubre a noviembre (Donoso y Cabello, 1978) y la fructificación entre diciembre y abril para luego comenzar con la diseminación. Existen situaciones en que la fructificación puede comenzar en marzo, dependiendo de la procedencia, ocurriendo cuando las cúpulas ya están abiertas dejando caer las semillas por gravedad o por el viento (Donoso *et al.*, 2006).

Las plantas germinadas en condición natural de forma sexual son escasas (Vidal y Premoli, 2004), por lo que son compensadas por el tipo de reproducción vegetativa (McQueen, 1976) mediante raíces adventicias en ramas parcialmente enterradas (Veblen., 1977), provocando pérdidas del bien genético a largo plazo y mutaciones somáticas (Premoli y Steinke, 2008).

Las semillas de ñirre presentan una latencia del tipo endógena superficial (Muñoz, 1993), la cual según Pérez y Martínez-Laborde (1994) se debe a la existencia de inhibidores en los propios tejidos del embrión que pueden tratarse con lixiviación, estratificación fría, aplicaciones de ácido giberélico (AG3), etileno, entre otras. Premoli (1991), evidenció que las semillas tienen baja viabilidad y capacidad germinativa, con resultados de solo un 13% de semillas con embrión, difiriendo del morfotipo, encontrando que semillas provenientes de morfotipos arbóreos poseen mayor tamaño, peso y capacidad germinativa que las de individuos achaparrados. Estudios previos realizados con estratificación fría han documentado porcentajes de germinación relativamente bajos, como el 20,6% por Donoso (1978), 18,4% por Premoli (1991), y 28% por Salinas (2014). Estos estudios han demostrado que la estratificación fría mejora la germinación, aunque siguen siendo limitados.

Los bosques de ñirre son poco valiosos desde el punto de vista maderero, ya que son muy nudosos y retorcidos (Ormazabal y Benoit, 1987); sin embargo, se ha identificado que son reservorios de Productos Forestales No Madereros (PFNM) de uso medicinal, comestible, ornamental y tintóreo, muchos de ellos con más de un uso, donde se utilizan hojas y flores para la fabricación de licores, preparaciones gastronómicas y aceites esenciales (Salinas y Uribe, 2021), las cuales cuentan con propiedades organolépticas y nutracéuticas que podrían convertirse en PFNM de

relevancia comercial e industrial (Gastaldi *et al.*, 2015). Además, cumple con funciones ecológicas como lo son la de protección de cuencas, fijación de carbono, generación de oxígeno, producción de agua, regulación del clima y conservador de fauna (Cisternas, s.f.) características de importancia para las comunidades cercanas a estos bosques sumado a que de ella extraen una serie de bienes.

Los incendios forestales en el sur de Chile han tenido un impacto devastador en los ecosistemas; en la región de Aysén, durante los últimos 40 años, se ha registrado un promedio anual de 3 mil hectáreas afectadas (Garreaud, 2019). Esta situación ha tenido consecuencias graves para especies como el ñirre, un árbol clave para el equilibrio ecológico y la biodiversidad local.

En base a la importancia ecosistémica de esta especie y debido a los escasos estudios que se han realizado con semillas de ñirre, los cuales han obtenido bajos resultados, es necesaria la investigación con tratamientos innovadores o la combinación de estos con métodos previamente utilizados para establecer un sistema eficiente de propagación. Además, resulta importante evaluar indicadores complementarios que nos puedan dar información sobre crecimiento o calidad de las semillas. Con esto no solo se contribuiría en el ámbito científico, sino que también sería clave para impulsar la restauración y conservación de esta especie frente a defoliaciones severas, incendios y extracciones periódicas, fortaleciendo los bosques frente a los problemas ambientales que enfrentamos hoy en día.

El objetivo de esta investigación es evaluar el efecto de distintos tratamientos en la germinación de semillas de *N. antarctica* y describir los cambios morfoanatómicos durante el proceso germinativo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio consistió en experimentos de germinación, viabilidad y descripción morfoanatómica del proceso germinativo. Para esto, las semillas utilizadas fueron semillas de *N. antarctica* colectadas por la CONAF en la Isla Prat y Lago Chacabuco en la Región de Aysén durante los años 2022 y 2024 respectivamente. Los ensayos de germinación fueron llevados a cabo en los laboratorios de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción, Campus Chillán, en tanto las

fotografías de Microscopía electrónica en Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo (VRID) durante los años 2023 y 2024.

Ensayos de Germinación

Se llevaron a cabo dos experimentos, previo a esto se evaluaron algunos aspectos físicos como el peso de las semillas y el número de semillas por kg con balanza analítica ($\pm 0,001$ g), estas son variables establecidas por las normas internacionales ISTA (International Seed Testing Association). Luego se procedió a la desinfección con hipoclorito al 1% para continuar con los ensayos germinativos.

Ensayo I. Las semillas fueron escarificadas con ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 10% durante 0 (sin escarificar), 10 y 20 minutos en vasos precipitados; luego llevadas a tubos de ensayo con agua destilada por 24 horas para eliminar posibles residuos. Una vez transcurrido este lavado se trasladaron a placas petri con papel filtro en la cual se sometieron a un sub tratamiento de estratificación fría a 4 °C por 30, 60 y 100 días (Tabla 1).

Tabla 1. Periodos de aplicación de ácido sulfúrico (H_2SO_4) y estratificación fría a semillas de ñirre (*Nothofagus antártica*).

Tratamientos	Escarificación ácida con H_2SO_4 (min)	Estratificación por frío 4 °C (días)
Es0-F30	0	30
Es10-F30	10	30
Es20-F30	20	30
Es0-F60	0	60
Es10-F60	10	60
Es20-F60	20	60
Es0-F100	0	100
Es10-F100	10	100
Es20-F100	20	100

Es: Escarificación 0, 10 y 20 (minutos). F: estratificación fría 30, 60 y 100 (días).

Posteriormente, se establecieron las semillas en placas petri con papel filtro húmedo en condiciones de 22 ± 24 °C con 18 horas de luz y 6 horas de oscuridad durante 30 días, donde se consideró como germinada cuando la semilla había desarrollado la radícula (Pérez y Martínez-Laborde, 1994) con crecimiento de al menos 1 mm de largo, este conteo se realizó cada dos días (Bahamonde, 2013).

Ensayo II. A otro grupo de semillas, se le aplicaron los tratamientos de lavado con agua, para ello se introdujeron las semillas dentro de vasos precipitados con agua a temperaturas controladas de 25 °C y 50 °C por 5 minutos, dejando como control un grupo de semillas sin lavar. Una vez finalizado este procedimiento, a cada grupo, incluido el que no fue lavado, se sometieron a un sub tratamiento con AG3 en tres distintas concentraciones: 0, 450 y 900 mg L⁻¹ por 24 horas (Tabla 2). Luego de aplicados los tratamientos se inició el proceso de germinación bajo las mismas condiciones y parámetros que en el experimento n°1.

Tabla 2: Temperaturas del agua en el lavado y aplicación de ácido giberélico (AG3) a distintas concentraciones en semillas de ñirre (*Nothofagus antártica*).

Tratamiento	Lavado de semilla (°C)	AG3 (mg/L)
L-AG0	-	0
L-AG450	-	450
L-AG900	-	900
L25-AG0	25	0
L25-AG450	25	450
L25-AG900	25	900
L50-AG0	50	0
L50-AG450	50	450
L50-AG900	50	900

L: Temperatura de lavado 25 y 50 °C, sin número significa que no hubo lavado. AG: Concentración de ácido giberélico 0, 450 y 900 (mg/L).

Viabilidad

Se realizó una prueba de viabilidad utilizando cloruro 2,3,5-trifenil tetrazolio al 0,5%

(Pérez y Martines-Laborde 1994). Para esto se tomó una muestra de 30 semillas por procedencia en la cual se consideraron como viables aquellas que, una vez sumergidas en la sustancia e incubadas en una estufa a 37 °C durante 4 horas presentaran embrión completo color rosado-rojo carmín, indicando actividad metabólica (Premoli 1991).

Descripción morfoanatómica

Se describieron los cambios morfoanatómicos de las semillas en el proceso germinativo hasta la aparición del tercer par de hojas. Este análisis se realizó utilizando imágenes obtenidas mediante microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido en el laboratorio de microscopía electrónica de la Universidad de Concepción.

En la medida que se manifestaron cambios morfoanatómicos en las semillas germinadas, se llevaron a microscopía electrónica de barrido para obtener fotografías, previa fijación en frascos de vidrio la cual se realizó con glutaraldehído al 2,5% en buffer cacodilato de sodio por al menos un día a 4 °C, lavadas con buffer y llevadas a deshidratación en una serie de etanol en concentraciones crecientes, con el propósito de deshidratar la semilla para finalmente realizar el secado a punto crítico y metalizar las muestras con vapores de oro.

Índice de velocidad de germinación

Se evaluó la rapidez con la que las semillas germinaron, para ello se cuantificó la cantidad de semillas germinadas por tratamiento para cada experimento cada día, con el fin de determinar el índice de velocidad de germinación (IVG) según la fórmula $IVG = \sum[n_i / (\sum t_i)]$, donde: n_i es el número de semillas germinadas en el intervalo de tiempo t_i y $\sum t_i$ es el período en días desde la siembra hasta el día final del experimento (Maguire, 1962).

Análisis estadístico:

Los ensayos de germinación se realizaron con un diseño completamente aleatorio.

Cada experimento tuvo 9 tratamientos y 3 repeticiones para cada tratamiento. La unidad experimental fue de 30 semillas por repetición. Cada experimento fue evaluado individualmente, mediante un análisis de varianza en el programa INFOSTAT y se realizó test de Tukey, con un nivel de significancia de 0.05 entre las medias. Para que los datos presenten una distribución normal los porcentajes de capacidad germinativa fueron transformados mediante la siguiente expresión ($\% \text{ de germinación} + 0,05$) 0,5 (Condo y Pazmiño, 2015).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Se determinó que el peso promedio de 1.000 semillas es 1,5 gramos, lo que indica que un kilogramo hay aproximadamente 666.000 semillas. Este resultado coincide con los datos obtenidos por Bahamonde (2013), quien, al evaluar esta misma variable, reportó un rango de peso para 1.000 semillas entre 1,1 y 1,6 gramos.

Ensayo I: Efecto del estratificado y escarificado sobre la germinación de semillas de *N. antarctica*.

Al analizar los resultados de porcentajes de germinación mediante análisis de varianza se obtuvo ausencia de diferencias significativas para el factor de escarificación a distintos minutos de exposición ($0,7074 > 0,05$), estratificación a 4 °C por 30, 60 y 100 días ($0,2746 > 0,05$) y para la interacción entre ambos factores ($0,2409 > 0,05$) (Tabla 3).

En general se obtuvieron bajos porcentajes de germinación, obteniendo como máximo un 28% en el tratamiento Es10-F100.

La escarificación realizada a las semillas indicó que no hubo efectos significativos, con porcentajes de germinación entre 19,3% y 20,3% demostrando que este tratamiento no es un factor de gran incidencia ya que estudios previos realizados solo con estratificación fría por Donoso y Cabello (1978) y Premoli (1991) presentaron porcentajes de 20,6% y 18,4% respectivamente, muy similares a los obtenidos en este estudio. Según Hartman y Kester (1987) la duración en la que se sumerge a la semilla en ácido sulfúrico depende del tipo de semilla, pudiendo oscilar entre 10 minutos a 6 horas. Para esta especie en particular se puede inferir que el

tiempo de escarificado aplicado no fue suficiente para superar la dormancia, ya que no hubo diferencias significativas con las semillas que no fueron sometidas a escarificación o que los mecanismos de dormancia serian menos dependiente de tratamientos mecánicos y están mayormente influenciados por factores internos o condiciones ambientales requeridas para romper dicho estado.

Tabla 3. Efecto de estratificación fría y escarificación con ácido sulfúrico (H_2SO_4) sobre el porcentaje de germinación de semillas de ñirre (*Nothofagus antártica*).

Minutos en escarificación	Porcentaje de germinación (%)			
	Días de estratificación			
	30 días	60 días	100 días	Promedio
0 min	14	18	21	17,7 ns
10 min	12	18	28	19,3 ns
20 min	25	18	19	20,3 ns
Promedio	17 ns	18 ns	22,7 ns	

Análisis de varianza indica que no existen diferencias significativas. ANDEVA, Test de Tukey ($P>0.05$). Coeficiente de variación 5,39. ns: no significativo

Los IVG (Tabla 4) variaron entre 0,20 (para Es10-F30) y 0,65 (para Es10-F100), evidenciando que los tratamientos tuvieron un impacto en la rapidez con que las semillas germinaron. Los tratamientos que fueron expuestos a mayor cantidad de días en estratificación fueron los más efectivos ya que obtuvieron los mayores índices de velocidad de germinación con IVG de 0,46 a 0,65, lo que indica que la aplicación de estratificación fría a 100 días aceleró el proceso germinativo. Por el contrario, los tratamientos con 0 y 10 minutos de escarificación con exposición a 30 días de estratificación mostraron los índices más bajos con valores de 0,21 y 0,20 respectivamente, probablemente debido a que la menor cantidad de días que pasaron en frio no fue suficiente para el rompimiento de la latencia de las semillas.

Ensayo II. Efecto del lavado y aplicación de ácido giberélico sobre la germinación de semillas de *N. antarctica*.

Al analizar los resultados se determinó que no hubo diferencias significativas en el porcentaje de germinación al comparar las distintas temperaturas utilizadas para eliminar posibles inhibidores en la semilla ($0,4996 > 0,05$), las distintas concentraciones de AG3 para estimular el proceso germinativo ($0,8021 > 0,05$) ni para el efecto en conjunto de ambos factores ($0,7845 > 0,05$), lo que indica que ninguno de estos tratamientos tuvo un impacto sobre la tasa de germinación.

Tabla 4. Índice de velocidad de germinación para escarificación con ácido sulfúrico (H_2SO_4) y estratificación fría a semillas de ñirre (*Nothofagus antártica*).

Tratamientos	Índice velocidad de germinación
Es0-F30	0,21
Es10-F30	0,20
Es20-F30	0,38
Es0-F60	0,33
Es10-F60	0,43
Es20-F60	0,36
Es0-F100	0,57
Es10-F100	0,65
Es20-F100	0,46

Es: Escarificación 0, 10 y 20 (minutos). F: estratificación fría 30, 60 y 100 (días).

El porcentaje más alto (27%), sin ser diferente a otros, se obtuvo en el tratamiento con un lavado de semilla en agua 25 °C y 0,450 (mg/L) de AG3 y el menor porcentaje (18%), tampoco diferente a otros, se obtuvo en el tratamiento con el lavado a temperatura de 50 °C y 450 (mg/L) de AG3 (Tabla 5). En muchos casos, la aplicación de giberelinas promueve la germinación de semillas en estado de latencia. Esto se debe a que, en condiciones normales, las concentraciones de giberelinas tienden a incrementarse en las yemas y semillas latentes durante la primavera, lo que indica que estas hormonas desempeñan un papel clave en la ruptura del estado de latencia. (Jensen y Salisbury 1988). Si se añade una giberelina específica, es posible que coincida únicamente con una de las que la planta produce

de forma natural. Por ello, si un proceso no muestra respuesta a la aplicación de giberelina exógena, no se puede afirmar que dicho proceso no esté regulado por giberelinas, ya que podría no haberse utilizado la giberelina precisa (Barceló *et al.*, 2011)

Tabla 5. Efecto del lavado con agua a distintas temperaturas y aplicación de ácido giberélico (AG3) sobre el porcentaje de germinación de semillas de ñirre (*Nothofagus antártica*).

Lavado de semillas (°C)	Porcentaje de germinación (%)			
	Concentración a AG3 (mg/L)			
	0 (mg/L)	450 (mg/L)	900 (mg/L)	Promedio
Sin lavado	20	23	19	21 ns
25 °C	20	27	24	24 ns
50 °C	20	18	21	20 ns
Promedio	20 ns	23 ns	21 ns	

Análisis de varianza indica que no existen diferencias significativas. Andeva ($P > 0.05$). Coeficiente de variación 5,47. L: lavado de semilla, ns: no significativo.

Los bajos porcentajes de germinación en ambos experimentos coinciden con estudios realizados por Salinas (2015) el cual atribuye posiblemente la baja capacidad germinativa a que es una especie que se desarrolla en zonas frías con temperaturas bajo 0 °C y no a las del laboratorio (22 ± 2 °C).

Los resultados del IVG para semillas lavadas a diferentes temperaturas y con aplicación de AG3 (Tabla 6) muestran una notable variabilidad, con valores desde 0,38 en el tratamiento de lavado a 25 °C y sin AG3, hasta 0,90 en el tratamiento de lavado a 25 °C y 450 (mg/L) de AG3, lo que indica que las condiciones aplicadas en este ensayo influyeron en la rapidez de germinación. Así, este último tratamiento destaca como el más efectivo con el índice más alto, lo que indica que tanto la temperatura del lavado de semilla y la aplicación de AG3 con una concentración de 450 mg/L fueron especialmente favorables para la germinación. En contraste, los tratamientos cuyas semillas se lavaron a 50 °C y a 25 °C sin AG3, tuvieron los índices más bajos (entre 0,38 y 0,45), lo que indica que factores como la

combinación de un lavado a temperaturas altas o a 25 °C más la no aplicación de AG3 no favorecieron el proceso germinativo. De acuerdo con Finch-Savage (2004), al alcanzar la temperatura ideal para la germinación, la velocidad aumenta, pero cuando las temperaturas se acercan a su límite máximo, esta velocidad disminuye, provocando un daño irreversible en las semillas, lo que pudo influir en este caso con el lavado a 50 °C.

Tabla 6. Índice de velocidad de germinación para lavado con agua y aplicación de ácido giberélico (AG3) en semillas de ñirre (*Nothofagus antártica*).

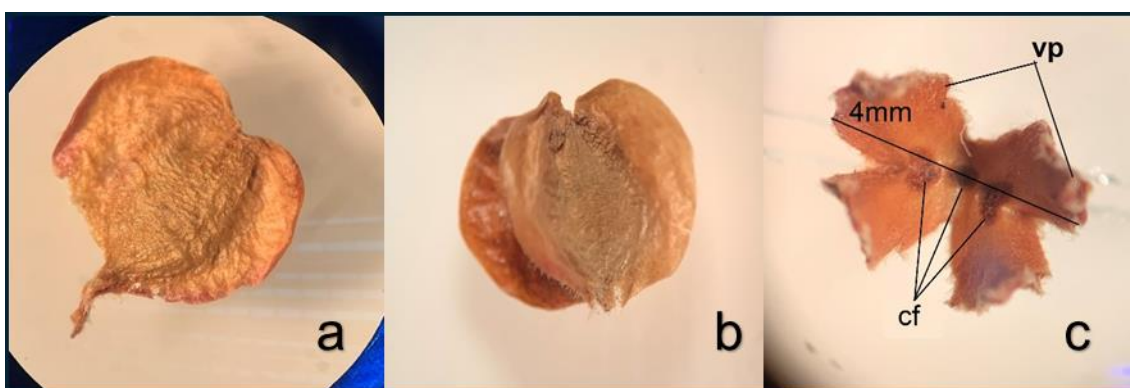
Tratamiento	Índice velocidad de germinación
L-AG0	0,52
L-AG450	0,67
L-AG900	0,53
L25-AG0	0,38
L25-AG450	0,90
L25-AG900	0,67
L50-AG0	0,45
L50-AG450	0,45
L50-AG900	0,43

L: Temperatura de lavado 25 y 50 °C, sin número significa que no hubo lavado. AG: Concentración de ácido giberélico 0, 450 y 900 (mg/L).

Viabilidad. Los porcentajes de viabilidad resultaron ser de 30% para las semillas de La isla Prat y 26% para las semillas procedentes del Lago Chacabuco. Según Premoli (1991) la baja viabilidad de las semillas puede ser atribuida a perforaciones causadas por la herbivoría de insectos, en particular aquellos del orden Lepidóptera que se alimentan de semillas (Gentili y Gentili, 1988); a la presencia de engrosamientos en los tejidos de la cubierta, conocidos como tumores, que pueden resultar tanto de infecciones bacterianas, fúngicas o virales como de la capacidad natural de las células vegetales para formar estos tejidos (Braun, 1969); o al desarrollo partenocárpico de las semillas, que podría ser consecuencia de un año con baja floración (Poole, 1950).

Descripción Morfoanatómica. *N. antarctica* posee un fruto rugoso del tipo nuez laminada/alada (Figura 1a) que se encuentra dentro de una cúpula formada por 4 valvas pilosas, esta llega a tener una longitud de 4 mm (Figura 1c), en su interior además de contener al fruto alado en el centro, resguarda otros dos trialados que envuelven al primero (Figura 1b), en la cúpula se observa de forma más oscura la cicatriz del funículo que deja el desprendimiento de las 3 semillas al momento de secarse (Figura 1c)

Figura 1. a. Fruto alado. b. Fruto trialado. c. Cúpula en *Nothofagus antarctica*.

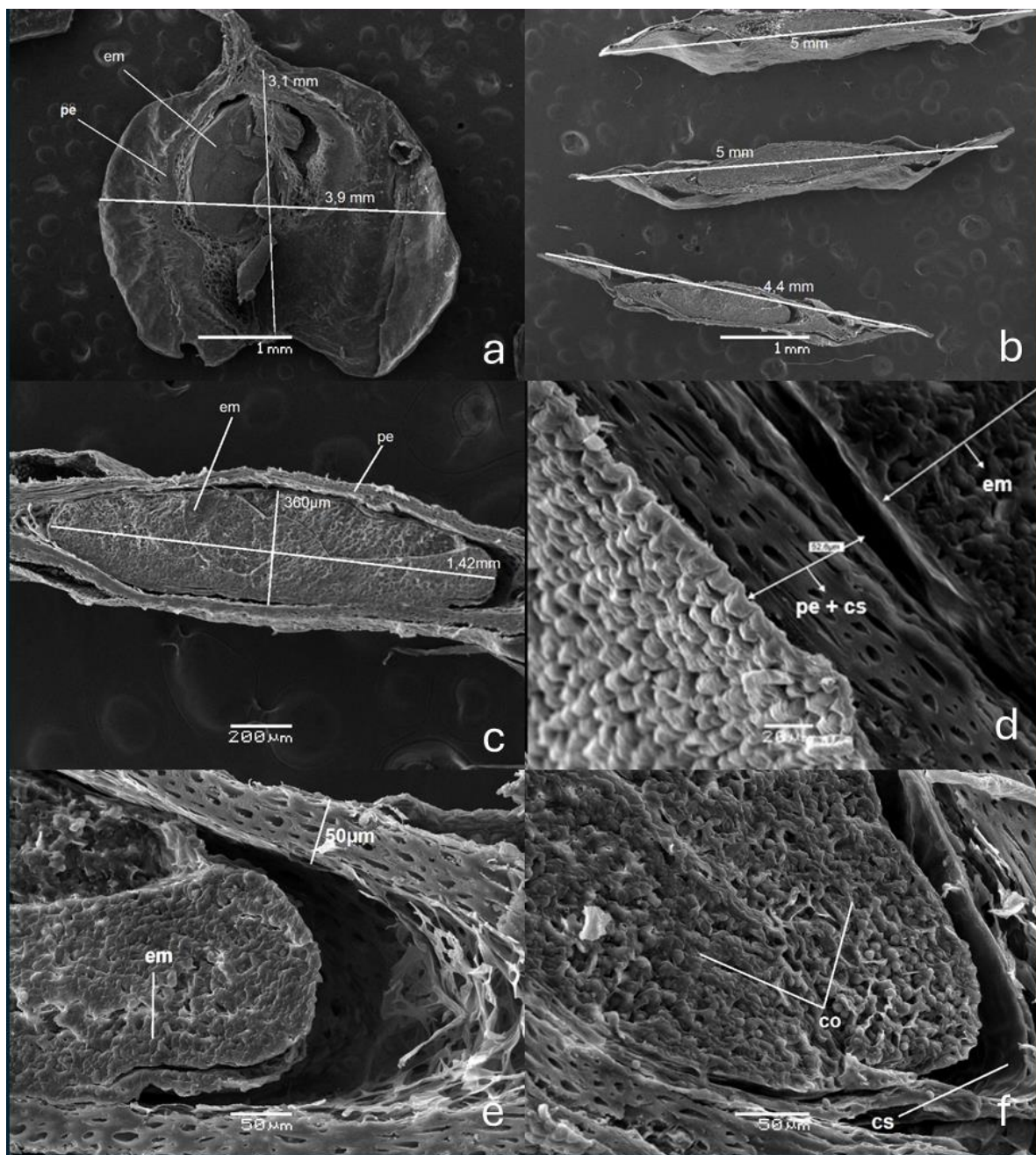


vp: valvas pilosas, cf: cicatriz funículo.

El fruto tiene una forma acorazonada con promedios de 3,9 mm de ancho y 4,5 mm de largo (Figura 2a-2b), medidas por sobre los rangos dados por Salinas *et al.* (2014). Dentro del fruto está contenida la semilla, que se observa por un corte laminar en el pericarpio (Figura 2a); mientras que en un corte transversal se ve parte del embrión el cual mide aproximadamente 1,42 mm de largo y 360 μm de espesor. Presenta un pericarpio lignificado (Figura 2d) de 52,6 μm de espesor y una leve diferenciación de los dos cotiledones (Figura 2f).

Pasada la primera semana las semillas ya hidratadas iniciaron el desarrollo de la radícula (Figura 3b) y liberaron los cotiledones del pericarpio (Figura 3c). Durante ambos experimentos de propagación, se evidenció un crecimiento asincrónico de las semillas, se observó que hasta el día 25, una vez dispuestas las semillas a germinar, aún había semillas que recién iniciaban el desarrollo de la raíz primaria y emanaban sus cotiledones.

Figura 2. a. Fruto y semilla con corte laminar en el pericarpio. b. Corte longitudinal de fruto y semilla. c. Corte transversal de fruto y semilla. d. Corte transversal pericarpio. e. Embrión. f. Cotiledones en *Nothofagus antarctica*.

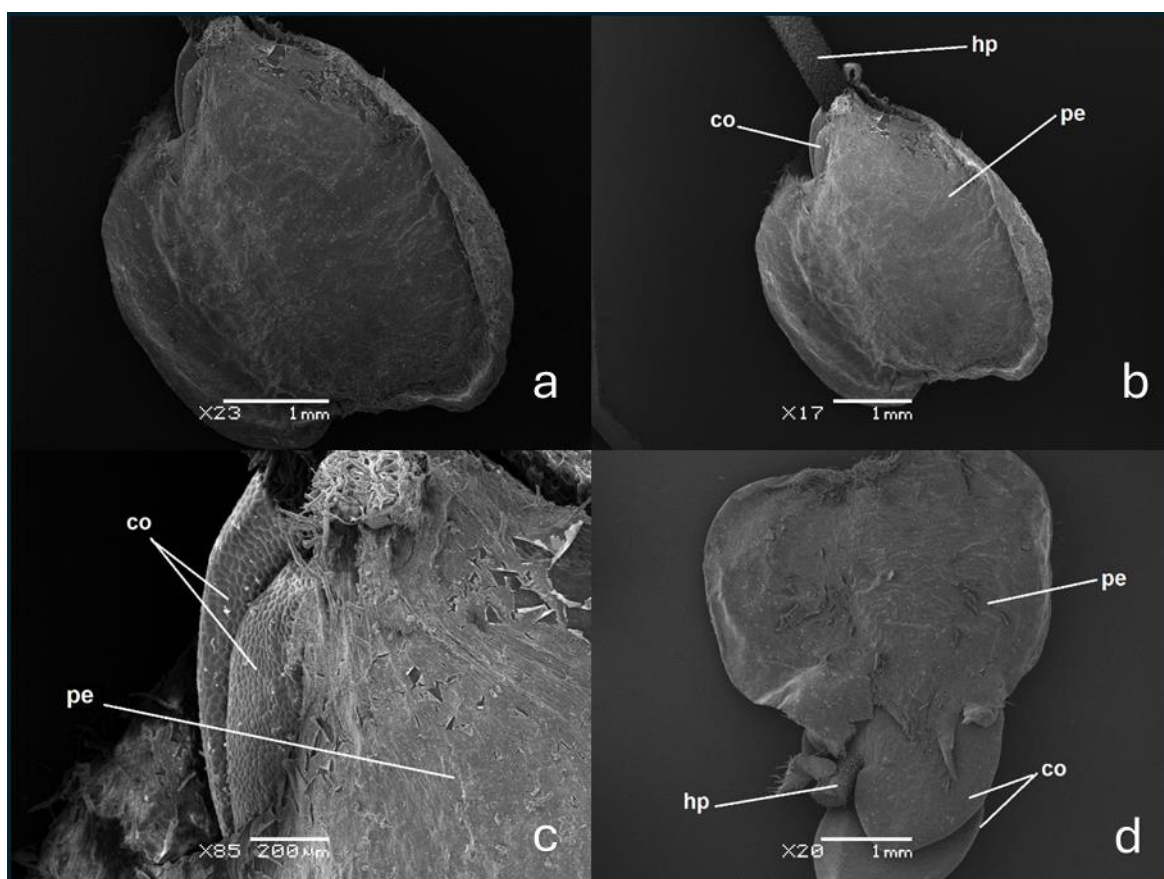


em: embrión, cs: cubierta seminal, pe: pericarpio, co: cotiledones.

En la Figura 4a se observa liberación de los cotiledones, midiendo 1,76 mm de ancho y 2,07 mm de largo y un espesor de 208 μm (Figura 4b). En la cara abaxial de ellos se observan claramente las células de la epidermis y estomas (Figura 4c),

el complejo estomático está formado por células oclusivas y células anexas dispuestas de forma paralela a entre sí, formando un complejo estomático paracítico (Mejías, Molist y Pombal s.f.), presentando una longitud de 15,4 μm (Figura 4d).

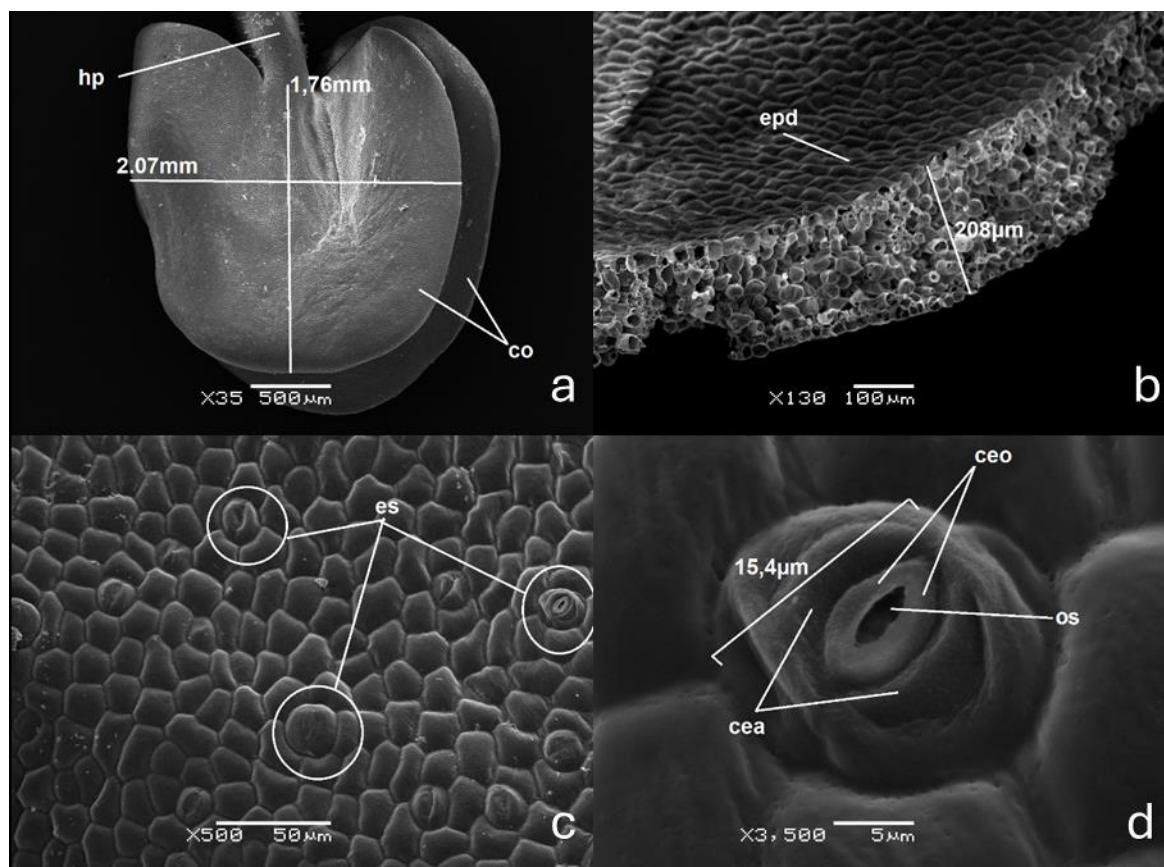
Figura 3. a. Fruto. b. Fruto e hipocótilo. c. Aparición cotiledones. d. Desprendimiento de cotiledones desde pericarpio en *Nothofagus antarctica*.



hp: hipocótilo. co: cotiledones. cs: cubierta seminal. pe: pericarpio.

En la Figura 4a se observa que los cotiledones ya se han liberado, midiendo 1,76 mm de ancho y 2,07 mm de largo y un espesor de 208 μm (Figura 4b). En la cara abaxial de ellos se observan claramente las células de la epidermis y estomas (Figura 4c), el complejo estomático está formado por células oclusivas y células anexas dispuestas de forma paralela a entre sí, formando un complejo estomático paracítico (Mejías, Molist y Pombal s.f.), con una longitud de 15,4 μm (Figura 4d).

Figura 4. a. Cotiledones. b. Corte transversal cotiledón. c. Pared de cotiledones en cara abaxial. d. Complejo estomático paracítico en *Nothofagus antarctica*

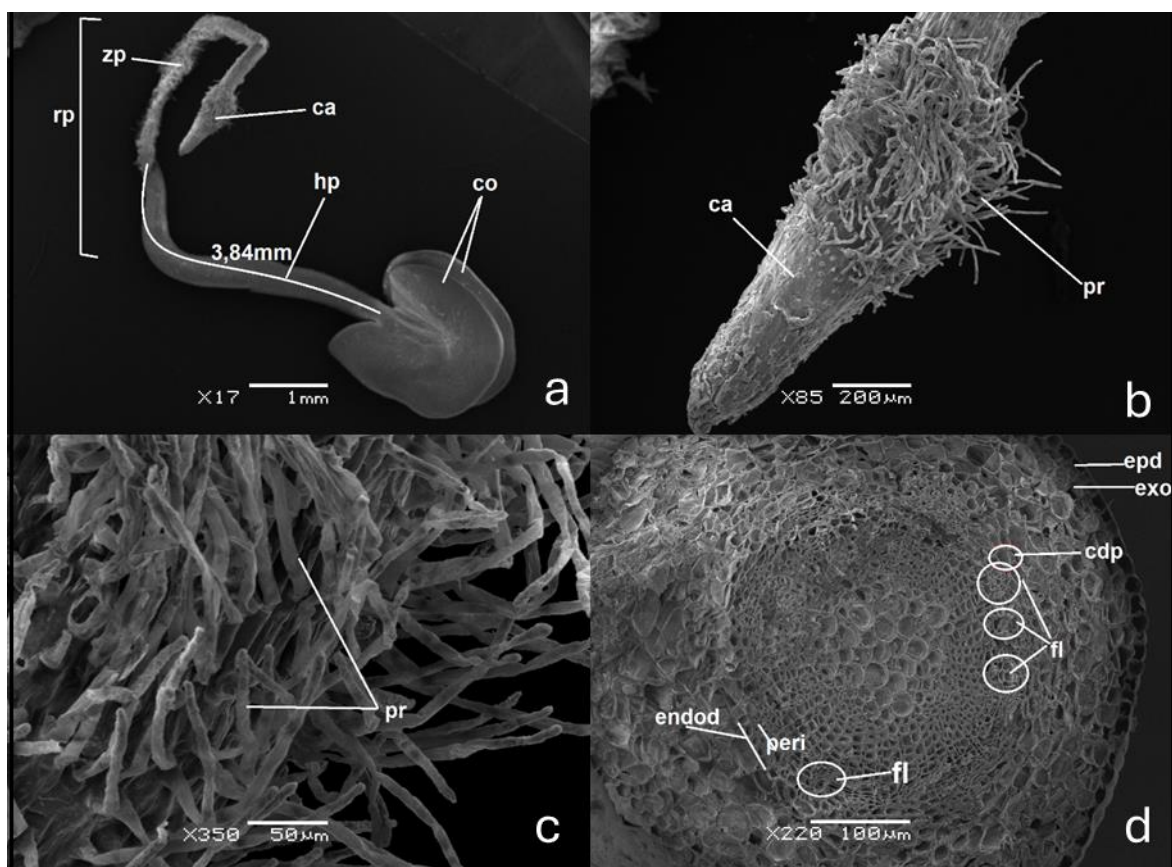


hp: hipocótilo, co: cotiledones. es: estomas. ceo: células oclusivas. Cea: células anexas. epd: epidermis.

En la Figura 5a, se observa que las semillas se han desprendido del pericarpio y comienzan su elongación, en este estado comienza la diferenciación entre la raíz primaria y el hipocótilo, este último alcanza longitudes de 3,84 mm. La elongación del hipocótilo demuestra que, en este caso, el ñirre tiene un tipo de germinación epigea, permitiendo que los cotiledones sean los primeros en desarrollar cloroplastos y por ende actividad fotosintética (Pérez y Martines-Laborde 1994). En la zona terminal se encuentra la caliptra (Figura 5b) que es una capa de células protectoras de la raíz, y un poco más arriba la zona pilífera, en la que se desarrolla gran cantidad de pelos radicales (Figura 5c), que son extensiones unicelulares epidérmicas que aumentan el área de superficie de la raíz incrementando la absorción de agua y minerales (Jensen y Salisbury 1988).

El corte transversal de la raíz, que tiene una longitud de 647 μm (Figura 5d) se observa en la parte más externa, la epidermis y la exodermis formando una barrera protectora que regula el intercambio de agua y nutrientes, mientras que la banda de Caspari, ubicada en la endodermis, actúa como una barrera selectiva que controla el paso de sustancias hacia el interior del cilindro vascular. El periciclo, situado bajo la endodermis, es responsable de la formación de raíces secundarias. Los floemas, por su parte, se encuentran distribuidos alrededor del xilema y son esenciales para el transporte de los productos de la fotosíntesis hacia otras partes de la planta. Además, se pueden observar las células de paso, que son células endodérmicas de paredes delgadas, funcionando como células especializadas que facilitan el movimiento de agua y minerales hacia el centro de la raíz, garantizando una distribución eficiente de estos recursos (Jensen y Salisbury 1988).

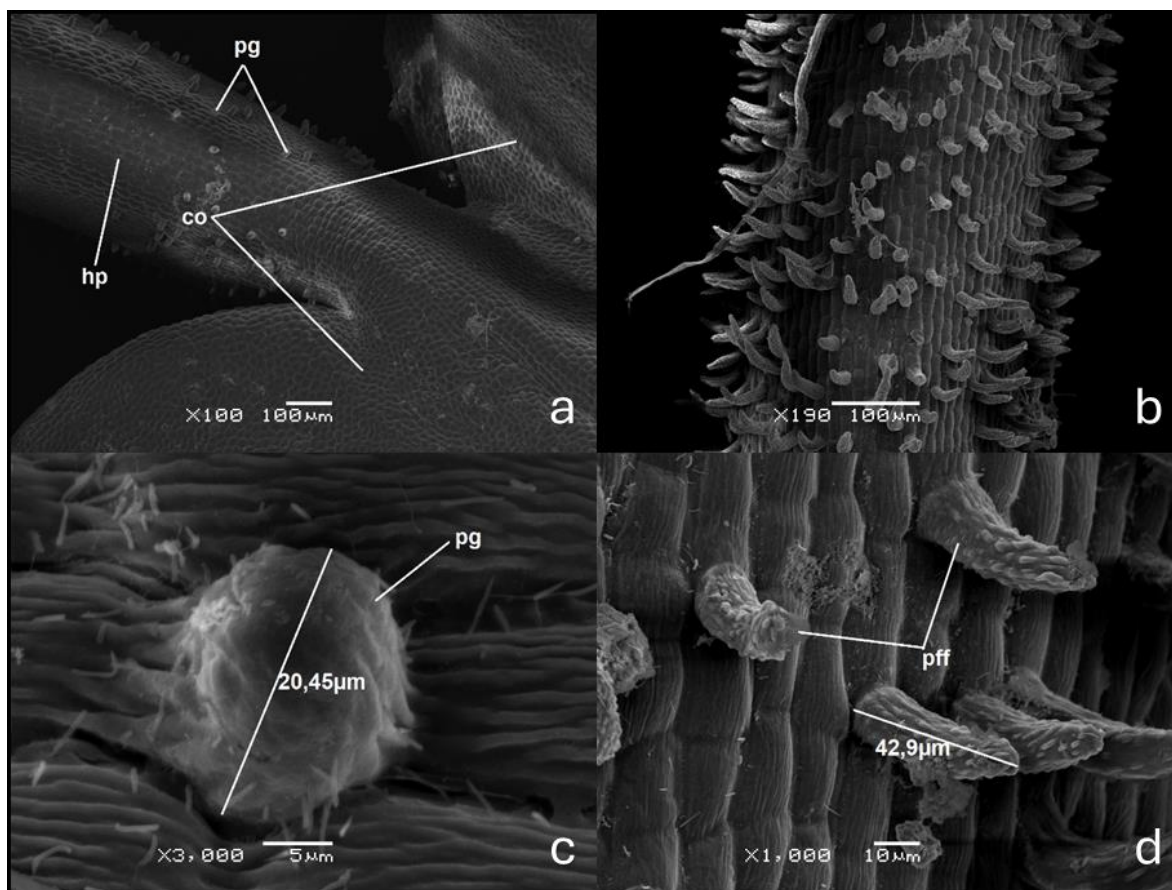
Figura 5. a. Primeros estadios de desarrollo. b. Caliptra. c. Corte transversal raíz. d. Zona pilífera en *Nothofagus antarctica*



rp: raíz primaria. zp: zona pilífera. ca: caliptra. hp: hipocótilo. co: cotiledones. pr: pelos radicales, endod: endodermis, peri: pericarpio, fl: floema, cdp: células de paso, epd: epidermis, exo: exodermis.

En la Figura 6b, el hipocótilo, localizado entre la raíz y los cotiledones presenta en su superficie dos tipos de pelos, los glandulares y filiformes. Los primeros con una longitud de $20,45\ \mu\text{m}$ (Figura 6c), son estructuras cortas y esféricas, rodeadas por una capa más gruesa que las otras células., mientras que los filiformes, de $42,9\ \mu\text{m}$ (Figura 6e), son estructuras alargadas y finas, que se extienden hacia el exterior con una forma delgada y cilíndrica. Ambos tipos de pelos están distribuidos sobre la epidermis del hipocótilo, contribuyendo a protección y nutrición de la planta en sus primeras etapas de desarrollo.

Figura 6. a. Punto de inserción cotiledones. b. Hipocótilo. c. Pelo glandular. d. Pelos glandulares y filiformes en superficie de hipocótilo. e. Pelo filiforme en *Nothofagus antarctica*.

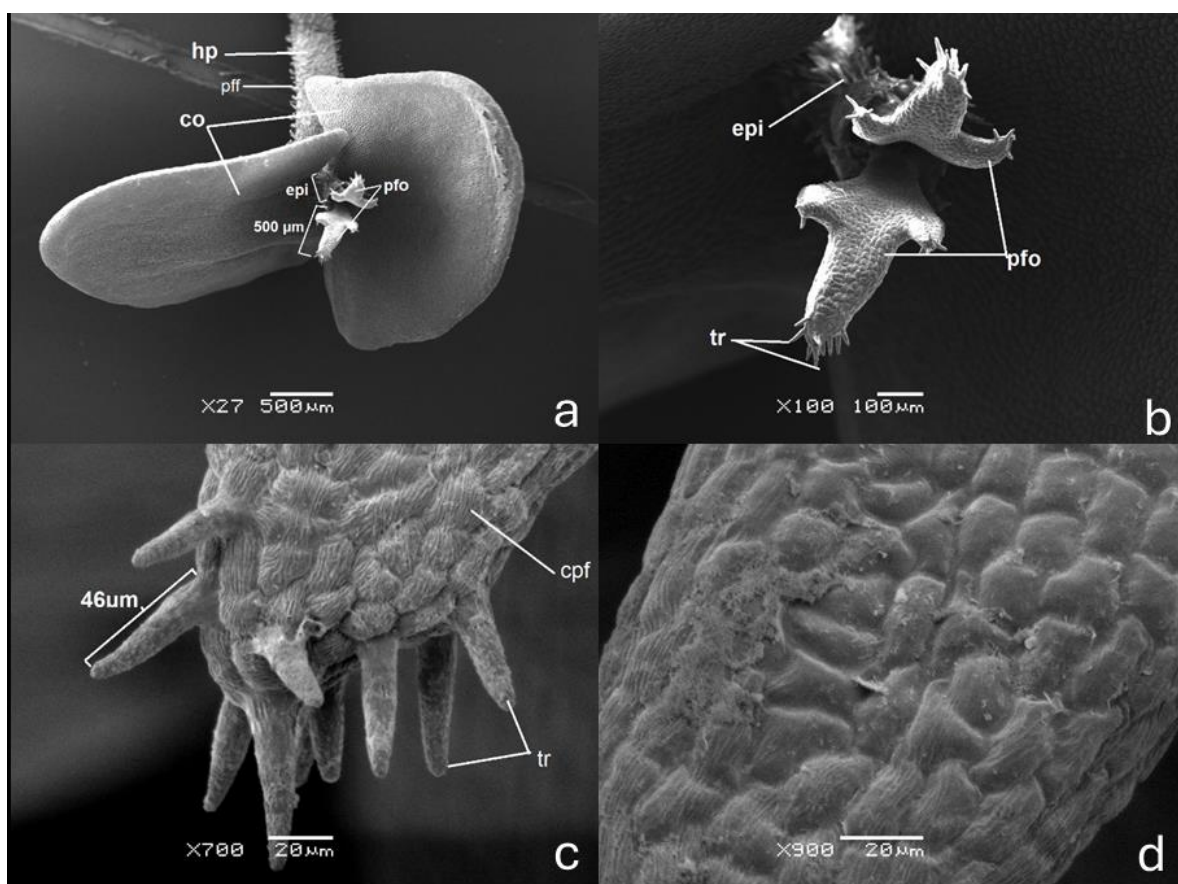


pg: pelos glandulares. hp: hipocótilo. co: cotiledones. pff: pelo filiforme.

En las siguientes imágenes los cotiledones ya se encuentran completamente abiertos, orientando su cara adaxial hacia arriba, lo que permite observar su forma

y estructura. Inmediatamente por encima del punto de inserción de los cotiledones, comienza el crecimiento del epicotilo, que se distingue por su alargada estructura cilíndrica (Figura 7a). En esta región, se localizan los primordios foliares, pequeñas formaciones protuberantes, rodeadas por una capa de células meristemáticas, que darán lugar al primer par de hojas. Estos primordios en desarrollo alcanzan una longitud aproximada de 500 μm (Figura 7b); en el extremo de estos, se encuentran los tricomas, también conocidos como pelos filiformes (Figura 7c), que sobresalen como estructuras alargadas y delgadas, con una longitud de hasta 46 μm .

Figura 7. a. Cotiledones y primordios foliares. b. Primordios foliares. c. Tricomas. d. Células en superficie de primordios foliares en *Nothofagus antarctica*.

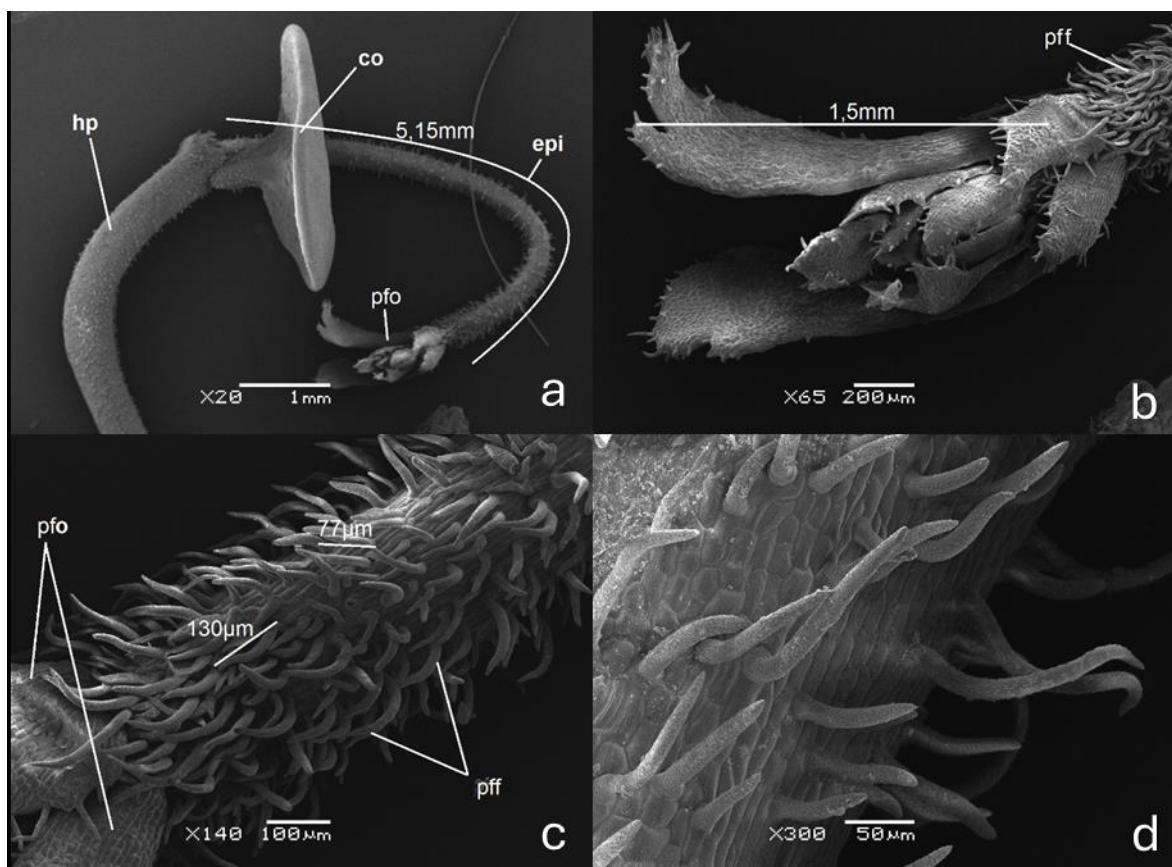


hp: hipocótilo. pff: pelos filiformes. co: cotiledones. epi: epicotilo. pfo: primordios foliares. tr: tricomas. cpf: células primordios foliares.

Durante su desarrollo, la plántula continúa su elongación, y el epicotilo sigue creciendo en longitud, alcanzando aproximadamente 5,15 mm (Figura 8a). Esta

parte del tallo, delgada y alargada, presenta una epidermis que se va diferenciando conforme avanza el crecimiento. A lo largo de su superficie, se distribuyen pelos filiformes (Figura 8c), que se extienden como estructuras finas y alargadas, cubriendo el epicotilo a lo largo de su longitud. En la parte superior del epicotilo, justo en el extremo, se desarrollan los primordios foliares, que son pequeñas protuberancias redondeadas o aplanadas, de tamaño 1,5 mm (Figura 8b). Estos primordios están rodeados de células meristemáticas, que continúan su proceso de diferenciación y crecimiento. Como el tallo en esta etapa no cuenta con una estructura protectora como la cofia en la raíz, los primordios foliares se disponen en una organización que ayuda a cubrir y resguardar el ápice del epicotilo, cumpliendo la función de protegerlo de condiciones ambientales adversas y lastimaduras físicas (Jensen y Salisbury 1998).

Figura 8. a. Elongación epicotilo. b. Primordios foliares. c. Epicotilo. d. Pelos filiformes en epicotilo en *Nothofagus antarctica*.



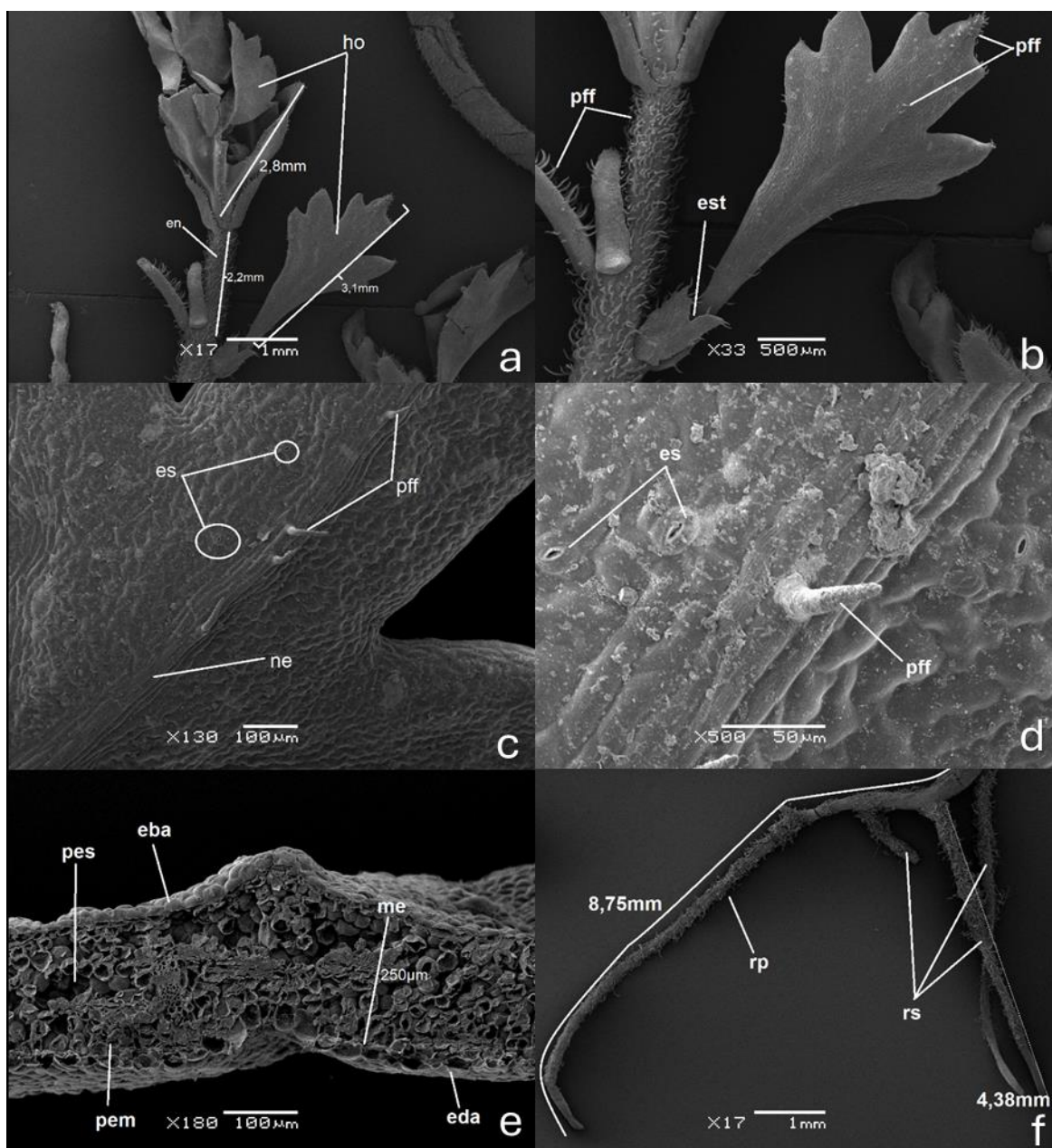
hp: hipocótilo. co: cotiledones. epi: epicotilo. pfo: primordios foliares. pff: pelos filiformes.

Ya es posible observar el desarrollo del primer y segundo par de hojas que emergen en la plántula, mostrando un crecimiento con longitudes que oscilan entre 2,8 mm y 3,1 mm. Los entrenudos entre estas hojas son visibles, presentando una epidermis dispuesta de forma longitudinal, en la cual se destacan los pelos filiformes que se extienden a lo largo de esta superficie (Figura 9a-9b). Las hojas, por su parte, presentan una nervadura dentada, característica que se observa en los bordes ligeramente ondulados y en las venas laterales que se ramifican a lo largo de la superficie foliar. Además, en la cara abaxial de las hojas, se encuentran distribuidos los pelos filiformes, junto a los estomas (Figura 9c-9d).

La venación de la hoja es pinada, presentando un nervio principal que se ramifica en venas secundarias a lo largo de la superficie de la hoja, un patrón típico en muchas plantas dicotiledóneas. En el interior de la hoja, la estructura del tejido vascular es claramente visible, con el xilema y floema organizados en los haces vasculares, mientras que el mesófilo, situado entre las dos capas de epidermis, presenta un grosor aproximado de 250 μm (Figura 9e). Este mesófilo está compuesto por dos tipos de parénquima: el parénquima en empalizada, donde ocurre principalmente la fotosíntesis, formado por células alargadas, densamente organizadas cerca de la epidermis adaxial, y el parénquima esponjoso, que contiene células más separadas creando espacios intercelulares que facilitan la circulación de gases (Jensen y Salisbury 1998).

En cuanto a la raíz primaria, se continúa observando su crecimiento hacia abajo, alcanzando una longitud de 8,75 mm, con una clara elongación diaria. En su estructura, se aprecian las raíces secundarias que comienzan a desarrollarse a lo largo de su extensión, proporcionando mayor estabilidad y soporte a la plántula, facilitando su anclaje al suelo (Figura 9e). Estas raíces secundarias emergen de manera radial desde la raíz primaria, con una estructura cónica en su extremo, lo que permite una expansión eficiente en busca de nutrientes. Su desarrollo es progresivo a medida que la plántula crece, incrementando la superficie de absorción. A medida que estas se ramifican contribuyen al fortalecimiento y estabilidad a largo plazo de la planta.

Figura 9. a. Primer par de hojas. b. Hoja. c. Nervadura de la hoja. d. Superficie hoja. e. Corte transversal hoja. f. Elongación raíz primaria y desarrollo de raíces secundarias en *Nothofagus antarctica*.

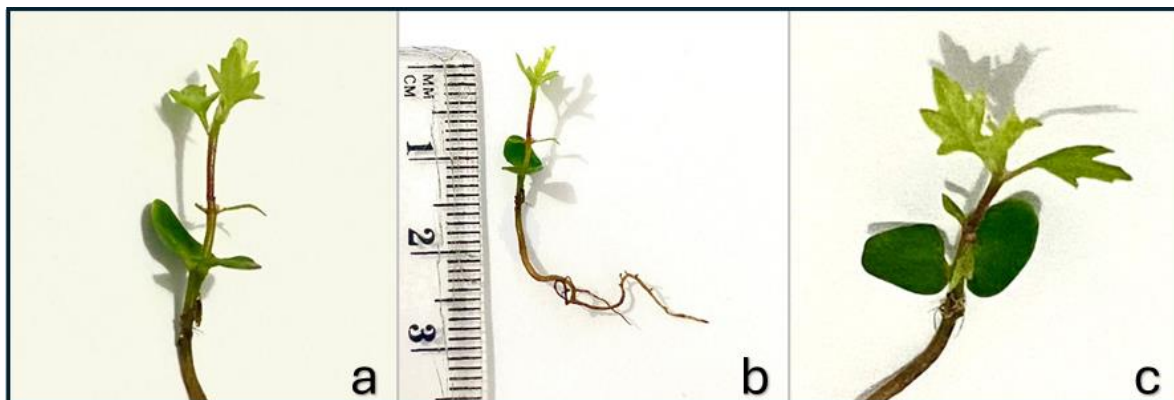


hp: hipocótilo. en: entre nudo. pff: primordios foliares, est: estipula. es: estomas. rp: raíz primaria. rs: raíz secundaria. eba: epidermis abaxial, eda: epidermis adaxial, pem: parénquima en empalizada, pes: parénquima esponjoso.

Después de un mes, la plántula mide aproximadamente 3 cm (Figura 10b). El primer par de hojas ya está completamente formado, con una forma alargada y bordes un poco dentados. Además, empieza a aparecer el segundo par de hojas,

que tiene una forma similar al primero, aunque todavía está en desarrollo. La raíz principal sigue creciendo, alargándose, mientras comienzan a aparecer raíces secundarias que se van extendiendo desde la raíz principal, ayudando a que se sostenga de manera más firme.

Figura 10. a. Plántula con tercer par de hojas. b. longitud de la plántula. c. Cotiledones y hojas en su cara abaxial en *Nothofagus antarctica*.



CONCLUSIONES

1. La aplicación de concentraciones de ácido sulfúrico y periodos de estratificación fría no influyó significativamente en los porcentajes de germinación, los cuales oscilaron entre 12% y 28%.
2. Si hubo impacto en la velocidad de germinación; los tratamientos con 100 días de estratificación si aumentaron el IVG con un máximo de 0,65, superando a los obtenidos con 30 días que oscilaron entre 0,20 y 0,38.
3. El lavado de semillas y la aplicación de AG3 no tuvo impacto significativo en los porcentajes de germinación, que fluctuaron entre 18% y 27%.
4. El lavado de semillas con agua a 50 °C redujo el IVG, ralentizando la germinación.
5. La especie presenta asincronía y los bajos porcentajes de germinación que oscilaron entre 12% y 28% está dado por la baja viabilidad de las semillas la cual alcanza solo un 30%.
6. La MEB permitió observar un pericarpio lignificado.

7. En la epidermis del primer par de hojas, se observan tricomas glandulares y estomas con complejo parasítico.
8. Las técnicas de MEB permitieron conocer la morfología y anatomía de la semilla lo que permitirá que futuros estudios de realicen con nuevos tratamientos de estratificado y escarificado.

REFERENCIAS

1. Bahamonde, A., L. Peri, H. Monelos and G. Martínez. 2013. Regeneración por semillas en bosques nativos de *Nothofagus antarctica* bajo uso silvopastoril en Patagonia Sur, Argentina. *Bosque (Valdivia)*. 34(1): 89-101.
2. Barceló, J., G. Nicolás, B. Sabater y R. Sánchez. 2001. *Fisiología Vegetal*. Ediciones Pirámide. Madrid. España
3. Braun, A.C. 1969. "Abnormal growth in plants". En: *Plant Physiology, a Treatise*, vol. VB, F.C. STEWARD (Ed.). Academic Press, New York: 379-420.
4. Buamscha, G., L. Contardi, K. Dumroese, J. Enricci, R. Escobar, H. Gonda, D. Jacobs, T. Landis, T. Luna, J. Mexal y K. Wilkinson. 2012. *Producción de plantas en viveros forestales (1a. ed.)*. Buenos Aires, Argentina: Consejo Federal de Inversiones; Comodoro Rivadavia, Argentina: Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco UNPSJB; Comodoro Rivadavia, Argentina: Centro de Investigación y Extensión Forestal Andino Patagónico.
5. Cabello, A., A. Sandoval y M. Carú. 2001-2002. Efecto de los tratamientos pregerminativos y de las temperaturas de cultivo sobre la germinación de semillas de *Talguenea quinquenervia* (talguén). *Ciencias Forestales*, 16 (1-2): 11-18.
6. Cisternas, J. s.f. Monografía de ñire (*Nothofagus antarctica* (G. Forst) Oerst), en la Región de Aysén. Corporación Nacional Forestal, Región de Aysén.
7. Condo, L. y J. Pazmiño. 2015. *Diseño experimental en el desarrollo del conocimiento científico de las ciencias agropecuarias*. Tomo 1. Escuela Superior Politécnica del Chimborazo. Instituto de Investigaciones. Riobamba, Ecuador.

8. Donoso, C. y Landrum, L. 1974. Manual de identificación de especies leñosas del bosque húmedo de Chile. Santiago, Chile: CONAF
9. Donoso, C. y A. Cabello. 1978. Antecedentes fenológicos y de germinación de especies leñosas chilenas. *Ciencias Forestales*. 1(2). 31-41.
10. Donoso, C. 1987. Variación Natural en Especies de *Nothofagus* en Chile. *Bosque*. 8(2): 85–97.
11. Donoso, C., L. Steinke and A. Premoli. 2006. *Nothofagus antarctica* (G. Forster) Oerst. En Donoso Zegers C ed. Las especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina. *Autoecología* (pp. 401-410). Valdivia, Chile: Marisa Cuneo Ediciones.
12. Finch-Savage, W.E. 2004. The use of population-based threshold models to describe and predict the effects of seedbed environment on germination and seedling emergence of crops. p. 51-96. In R.L. Benech-Arnold and R.L. Sánchez (eds.). *Seed physiology: applications to agriculture*. Haworth Press, New York, USA.
13. Garreaud, R. 2019. Incendios en Aysén. Departamento de Geofísica. Universidad de Chile.
14. Gentelini, M. y P. Gentili. 1988. "Lista comentada de los insectos asociados a las especies sudamericanas del género *Nothofagus*. 1988". Monografía. Academia Nacional de Ciencias Exactas y Naturales (Buenos Aires) 4: 85-106.
15. González, S., B. Gastaldi, F. Mattenet, P. Peri, C. van Baren, P. Di Leo Lira, D. Retta and A. Bandonim. 2016. Aceites esenciales en partes aéreas de *Nothofagus antarctica* (G. Forst.) Oerst. de diferentes sitios de la patagonia. V Jornadas Nacionales de Plantas Aromáticas Nativas y sus Aceites Esenciales - I Jornadas Nacionales de Plantas Medicinales Nativas. Buenos Aires, Argentina.
16. Hartmann, H. and D. Kester. 1990. Propagación de plantas. Principios y prácticas. 4a. impresión. México: CECOSA.
17. Hoces, A. 1988. Efecto de la textura de suelo, tamaño de semilla y profundidad de siembra en la emergencia de semillas de pino oregón *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco. Memoria de Título. Universidad de Concepción, Fac. Cs. Agr. Vet y Forestales. Chillán, Chile.

18. Hoffman J., A. 2005. Flora silvestre de Chile. Zona araucana; Árboles, arbustos y enredaderas leñosas (5a. ed.). Santiago, Chile: Fundación Claudio Gay.
19. Jensen, W. y F. Salisbury. 1988. Botánica. McGraw-Hill. Naucalpan de Juárez. México
20. Maguire, J.D. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for Seedling Emergences and Vigor. *Crop Science* 2:176-177
21. Mc Queen, D. 1976. The ecology of *Nothofagus* and associated vegetation in South America. *Tuatara*. 22(3): 38-68.
22. Megías, M., P. Molist y M. Pombal. s.f. Atlas de histología vegetal y animal [en línea]. <<http://mmeqias.webs.uvigo.es/inicio.html>>. [Consulta: 14 octubre 2024]
23. Muñoz, M. 1993. Algunos antecedentes sobre propagación de *Nothofagus*. *Ciencia e Investigación Forestal, CIFOR*. 7(2): 377-389.
24. Ormazabal, C. y I. Benoit. 1987. El Estado de Conservación del Género *Nothofagus* en Chile. *Bosque*. 8(2): 109–120.
25. Pérez, F. y J. Martínez-Laborde. 1994. Introducción a la fisiología vegetal. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España.
26. Premoli, A. 1991. Morfología y capacidad germinativa en poblaciones de *Nothofagus antarctica* (Forster) Oerst. del noroeste andino patagónico. *Bosque*. 12(2): 53–59.
27. Premoli, A. and L. Steinke. 2008. Genetics of sprouting: effects of long-term persistence in fireprone ecosystems. *Molecular Ecology*. 17: 3827-3835.
28. Poole, A. 1948. Studies of the New Zealand *Nothofagus* species. 2. Nut and cupule development", *Trans. Roy. Soc. N.Z.* 78: 502-508.
29. Ramírez, C., M. Correa, H. Figueroa y J. San Martín. 1985. Variación del Hábito y Hábitat de *Nothofagus antártica* en el Centro Sur de Chile. *Bosque*. 6(2): 55–73.

30. Ramírez, C. 1987. El género *Nothofagus* y su importancia en Chile. *Bosque*. 8(2): 71-76.
31. Rodríguez, R., O. Matthei y M. Quezada. 1983. *Flora arbórea de Chile*. Concepción, Chile: Universidad de Concepción.
32. Salinas S., Z. Koch, B. Acuña-Aroca y M. Uribe. 2014. Propagación sexual y asexual de Ñire *Nothofagus antarctica* (Forster) Oerst en la Patagonia Chilena. *Ciencia & Investigación Forestal*. 20(3): 15–42.
33. Salinas, J., 2015. Estudio de regeneración natural en bosques de *Nothofagus antártica* (Forster) Oerst. (ñire) bajo pastoreo doméstico en la región de Aysén. Instituto forestal.
34. Salinas, J., B. Acuña, K. Hepp, C. Little, I. Moya, P. Peri and A. Sotomayor. 2017. Sistemas silvopastorales una alternativa de manejo sostenible para bosques de ñirre (*Nothofagus antarctica* (G. Forst.) Oerst.) Región de Aysén. Coyhaique, Chile: INFOR.
35. Salinas, J. y A. Uribe. 2021. Productos Forestales No Madereros Presentes en los Bosques de Ñirre (*Nothofagus antarctica*) de la Zona Sur Austral de Chile. *Ciencia & Investigación Forestal*. 27(1): 87–100.
36. Veblen, T.T., D. Ashton, F. Schlegel y A.T. Veblen. 1977. Plant succession in a timberline depressed by volcanism in south-central Chile. *Journal of Biogeography*. 4: 275-294.
37. Vidal, R. y A. Premoli. 2004. Variación en *Nothofagus antarctica* (Forster) Oerst. En: Donoso, C., Gallo, L., Premoli, A. e Ipinza, R. (eds.). Variación intraespecífica en especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina (pp 173-188). Santiago, Chile: Editorial Universitaria.