

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE LA SANTÍSIMA CONCEPCIÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS



**Facultad de  
Ciencias**

Universidad Católica de la Santísima Concepción

Efecto fitoregulador de taninos condensados y sus derivados modificados por aminación sobre la germinación y el crecimiento de plántulas de especies monocotiledóneas y dicotiledóneas.

Por

Natalia del Pilar Urrutia Nuñez

Memoria entregada a la Facultad de Ciencias de la Universidad Católica de la Santísima Concepción para optar al título profesional de Químico Ambiental.

Profesor Guía: Dra. Marcia González Teuber.

Concepción  
2020



Acta de Certificación

Certifico que el trabajo de Tesis se realizó bajo mi dirección y ha sido aprobado.

Profesor Guía: Dra. Marcia González T.

\_\_\_\_\_

Declaro que el contenido de esta tesis no se ha presentado total o parcialmente para optar a otro Título o Grado Académico.

***Natalia del Pilar Urrutia Nuñez***

\_\_\_\_\_

Nota del Informe de Práctica o Tesis: 6.41

Fecha de aprobación del Examen de Título y Grado:

\_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2020

Ministro de Fe: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, agradezco a Dios, por permitirme haber llegado al fin de este proceso.

A mis padres Natividad Núñez y Jaime Urrutia, por su apoyo en todo el año de estudio en la universidad y a mis amigos que fui conociendo en el camino, durante este proceso.

Al Dr. Danny García, por contribuir a mi desarrollo científico e impulsarme a complementar mis conocimientos.

A la Dra. Marcia González, por su ayuda y dedicación, en este término de carrera y por su confianza en mis capacidades para la realización de trabajos de investigación.

A Valeria Palma y Francisca Aranda por su ayuda, dedicación y paciencia en esta última etapa.

## ÍNDICE

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	3
<b>1. RESUMEN</b> .....	11
<b>2. INTRODUCCIÓN</b> .....	13
<b>3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b> .....	19
3.1 Hipótesis .....	19
3.2 Objetivo General .....	19
3.3 Objetivos Específicos .....	19
<b>4 METODOLOGÍA</b> .....	20
4.1 Origen de los taninos.....	20
4.2 Prueba de toxicidad mediante semillas.....	20
4.3 Preparación de los taninos modificados.....	20
4.4 Disoluciones de taninos condensados y modificados.....	21
4.5 Bioensayos de germinación y crecimiento.....	21
4.6 Evaluación de germinación y posterior crecimiento.....	23
4.7 Análisis estadísticos.....	25
<b>5. RESULTADOS</b> .....	26
5.1 Resultados de especies monocotiledóneas.....	26
5.2 Resultados de especies dicotiledóneas.....	42
<b>6. Conclusión y Discusión</b> .....	58

**8. BIBLIOGRAFÍA.....61**

**9. ANEXO .....67**

## Índice de tablas (anexos)

<b>Tabla 1:</b> Anova y Kruskall-Wallis, que muestra los efectos de la concentración de los taninos condensados y taninos condensados modificados de Mimosa en <i>Avena sativa</i> .....	67
<b>Tabla 2:</b> Anova y Kruskall-Wallis, que muestra los efectos de la concentración de los taninos condensados y taninos condensados modificados de Quebracho en <i>Avena sativa</i> .....	68
<b>Tabla 3:</b> Anova y Kruskall- Wallis, que muestra los efectos de la concentración de los taninos condensados y taninos condensados modificados de Pino radiata 1 en <i>Avena sativa</i> .....	69
<b>Tabla 4:</b> Anova y Kruskall-Wallis, que muestra los efectos de la concentración de los taninos condensados y taninos condensados modificados de Pino radiata 2 en <i>Avena sativa</i> .....	69
<b>Tabla 5:</b> Anova y Kruskall-Wallis, que muestra los efectos de la concentración de los taninos condensados y taninos condensados modificados de Mimosa en <i>Triticum aestivum</i> .....	70
<b>Tabla 6:</b> Anova y Kruskall- Wallis, que muestra los efectos de la concentración de los taninos condensados y taninos condensados modificados de Quebracho en <i>Triticum aestivum</i> .....	71
<b>Tabla 7:</b> Anova y Kruskall-Wallis, que muestra los efectos de la concentración de los taninos condensados y taninos condensados modificados de Pino radiata 1 en <i>Triticum aestivum</i> .....	71
<b>Tabla 8:</b> Anova y Kruskall-Wallis, que muestra los efectos de la concentración de los taninos condensados y taninos condensados modificados de Pino radiata 2 en <i>Triticum aestivum</i> .....	72
<b>Tabla 9:</b> Anova y Kruskall-Wallis, que muestra los efectos de la concentración de los taninos condensados y taninos condensados modificados de Mimosa en <i>Trifolium sativa</i> .....	73

**Tabla 10:** Anova y Kruskall-Wallis, que muestra los efectos de la concentración de los taninos condensados y taninos condensados modificados de Quebracho en *Trifolium sativa*.....73

**Tabla 11:** Anova y Kruskall-Wallis, que muestra los efectos de la concentración de los taninos condensados y taninos condensados modificados de Pino radiata 1 en *Trifolium sativa*.....74

**Tabla 12:** Anova y Kruskall-Wallis, que muestra los efectos de la concentración de los taninos condensados y taninos condensados modificados de Pino radiata 2 en *Trifolium sativa*.....75

**Tabla 13:** Anova y Kruskall-Wallis, que muestra los efectos de la concentración de los taninos condensados y taninos condensados modificados de Mimosa en *Lactuca sativa*.....75

**Tabla 14:** Anova y Kruskall-Wallis, que muestra los efectos de la concentración de los taninos condensados y taninos condensados modificados de Quebracho en *Lactuca sativa*.....76

**Tabla 15:** Anova y Kruskall-Wallis, que muestra los efectos de la concentración de los taninos condensados y taninos condensado modificados de Pino radiata 1 en *Lactuca sativa*..... 77

**Tabla 16:** Anova y Kruskall-Wallis, que muestra los efectos de la concentración de los taninos condensados y taninos condensados modificados de Pino radiata 2 en *Lactuca sativa*.....77

## Índice de figuras

<b>Figura 1:</b> Efecto de la concentración de taninos no modificados, de los cuatro orígenes, sobre el porcentaje de germinación de <i>Avena sativa</i> .....	27
<b>Figura 2:</b> Efecto de la concentración de taninos modificados, de los cuatro orígenes, sobre el porcentaje de germinación en <i>Avena sativa</i> .....	28
<b>Figura 3:</b> Efecto de la concentración de taninos no modificados, de los cuatro orígenes, sobre la elongación de la radícula en <i>Avena sativa</i> .....	29
<b>Figura 4:</b> Efecto de la concentración de taninos modificados de los cuatro orígenes, sobre la elongación de la radícula en <i>Avena sativa</i> .....	30
<b>Figura 5:</b> Efecto de la concentración de taninos no modificados, de los cuatro orígenes, sobre la elongación del coleóptilo en <i>Avena sativa</i> .....	32
<b>Figura 6:</b> Efecto de la concentración de taninos modificados, de los cuatro orígenes, sobre la elongación del coleóptilo en <i>Avena Sativa</i> .....	33
<b>Figura 7:</b> Efecto de la concentración de taninos no modificados de los cuatro orígenes, sobre el porcentaje de germinación en <i>Triticum aestivum</i> .....	34
<b>Figura 8:</b> Efecto de la concentración de taninos modificados de los cuatro orígenes, sobre el porcentaje de germinación en <i>Triticum aestivum</i> .....	35
<b>Figura 9:</b> Efecto de la concentración de taninos no modificados, de los cuatro orígenes, sobre la elongación de la radícula en <i>Triticum aestivum</i> .....	37
<b>Figura 10:</b> Efecto de la concentración de taninos modificados, de los cuatro orígenes, sobre la elongación de la radícula en <i>Triticum aestivum</i> .....	38

<b>Figura 11:</b> Efecto de la concentración de taninos no modificados, de los cuatro orígenes, sobre la elongación del coleóptilo en <i>Triticum aestivum</i> .....	39
<b>Figura 12:</b> Efecto de la concentración de taninos modificados, de los cuatro orígenes, sobre la elongación del coleóptilo en <i>Triticum aestivum</i> .....	41
<b>Figura 13:</b> Efecto de la concentración de taninos no modificados, de los cuatro orígenes, sobre el porcentaje de germinación en <i>Trifolium sativa</i> .....	42
<b>Figura 14:</b> Efecto de la concentración de taninos modificados, de los cuatro orígenes, sobre el porcentaje de germinación en <i>Trifolium sativa</i> .....	43
<b>Figura 15:</b> Efecto de la concentración de taninos no modificados, de los cuatro orígenes, sobre la longitud de la radícula en <i>Trifolium sativa</i> .....	44
<b>Figura 16:</b> Efecto de la concentración de taninos modificados, de los cuatro orígenes, sobre la longitud de la radícula en <i>Trifolium sativa</i> .....	46
<b>Figura 17:</b> Efecto de la concentración de taninos no modificados, de los cuatro orígenes, sobre la longitud del coleóptilo en <i>Trifolium sativa</i> .....	47
<b>Figura 18:</b> Efecto de la concentración de taninos modificados, de los cuatro orígenes, sobre la longitud del coleóptilo en <i>Trifolium sativa</i> .....	48
<b>Figura 19:</b> Efecto de concentración de taninos no modificados de los cuatro orígenes, sobre el porcentaje de germinación en <i>Lactuca sativa</i> .....	50
<b>Figura 20:</b> Efecto de la concentración de taninos modificados, de los cuatro orígenes, sobre el porcentaje de germinación en <i>Lactuca sativa</i> .....	51

**Figura 21:** Efecto de la concentración de taninos no modificados, de los cuatro orígenes, sobre la elongación de la radícula en *Lactuca sativa*.....52

**Figura 22:** Efecto de la concentración de taninos modificados, de los cuatro orígenes, sobre la elongación de la radícula en *Lactuca sativa*.....54

**Figura 23:** Efecto de la concentración de taninos no modificados, de los cuatro orígenes, sobre la elongación del coleóptilo en *Lactuca sativa*.....55

**Figura 24:** Efecto de la concentración de taninos modificados, de los cuatro orígenes, sobre la elongación del coleóptilo en *Lactuca sativa*.....56

## 1 RESUMEN

Los insecticidas son el método tradicionalmente utilizado para controlar plagas en la agricultura, sin embargo, su acción frecuentemente también afecta a especies no-plagas, teniendo un impacto mayor sobre el ecosistema. Por esto, la tendencia actual es buscar compuestos naturales o sus derivados, que puedan actuar como potenciales controladores de plagas. Los taninos son compuestos naturales abundantes en especies de plantas, que presentan múltiples propiedades biológicas, entre éstas la capacidad de generar un efecto insecticida. Además, la modificación de los taninos con agentes químicos específicos, tales como el amoníaco acuoso, mejora el desempeño de estos compuestos. A pesar del potencial rol de los taninos como agentes insecticidas, no existe información sobre la toxicidad que los taninos puedan provocar sobre plantas de interés para la agricultura, y sobre las cuales se utilizarían estos potenciales insecticidas. En el presente estudio, se investigó el efecto fitoregulador de los taninos provenientes de distintas especies leñosas (*Acacia mersii* (Mimosa), *Schinopsis balansae* (Quebracho) y *Pinus radiata* Don. (Pino)), tanto en su estado natural, así como también modificados con amoníaco acuoso, a diferentes concentraciones del analito (0,01, 0,1, 1, 10 y 100 mg/L), sobre la germinación y el crecimiento (elongación de la radícula y del hipocótilo/coleóptilo) de plántulas de las especies monocotiledóneas *Avena sativa* y *Triticum aestivum*, y dicotiledóneas *Trifolium sativa* y *Lactuca sativa*. En términos generales, se encontró un efecto fitoregulador negativo por parte de los taninos no modificados sobre el porcentaje de germinación, elongación de la radícula y la elongación del hipocótilo/coleóptilo.

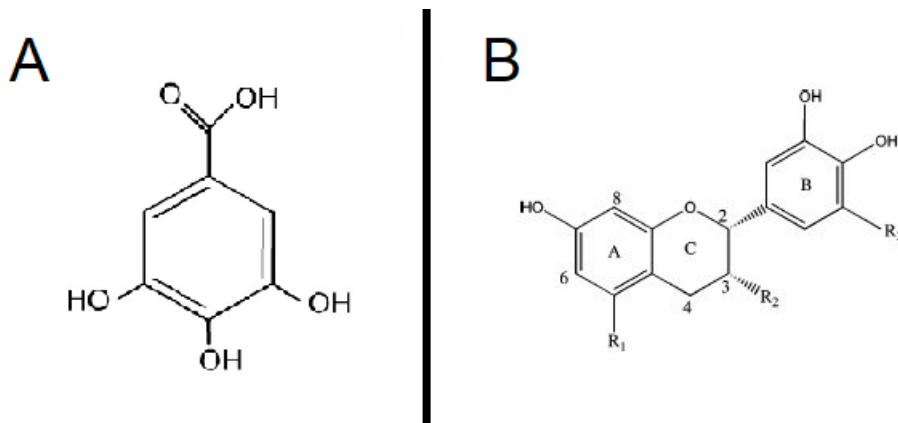
Adicionalmente, se encontró que el tanino modificado causó un efecto moderadamente positivo en especies monocotiledóneas (avena y trigo) sobre la germinación, la elongación de la radícula y la elongación del coleóptilo, independiente del origen y la concentración del tanino. En forma opuesta, a las especies dicotiledóneas (trébol y lechuga), la modificación no entregó ningún efecto benéfico, similar a lo observado con el tanino no modificado. Se concluye que el tanino no modificado no sería apropiado utilizarlo como un insecticida natural, debido a su efecto nocivo sobre las especies de plantas. En cambio, los taninos modificados con aminación, podrían tener un potencial para disminuir la toxicidad de estos metabolitos secundarios, lo cual podría potenciar su uso como posible insecticida natural. Esto último, sin embargo, requiere más estudio, y dependería de la especie de planta, con la cual se desea trabajar.

## 2. INTRODUCCIÓN

La utilización del bosque y su industrialización genera altos volúmenes de desechos fibrosos de distinta naturaleza, en especial provenientes de corteza desechada en el proceso de la producción de papel a partir de la madera (Vidaurre, 1986). La corteza es la capa más externa de los tallos y raíces de plantas leñosas, tales como los árboles, pudiendo alcanzar del 5 al 28% del peso total del árbol. Se estima que la cantidad global de corteza desechada por el uso comercial de la madera equivale a aproximadamente a 359.114.200 m<sup>3</sup> anualmente (Pásztory et al., 2016), los cuales generalmente van a dar a vertederos, generando desechos gaseosos tóxicos y un aumento en la acidificación del suelo, de difícil eliminación (Rosales-Castro et al., 2009; Steindor et al., 2011; Zhao et al., 2015). Debido a esta contaminación medioambiental, es que en la actualidad resulta imperiosa la necesidad de buscar formas de reutilizar dicha corteza con fines utilitarios.

La corteza, al igual que la madera, está formada químicamente por los componentes típicos de la pared celular: celulosa, lignina y por sustancias extraíbles, que se forman a partir del metabolismo secundario de las plantas y que contienen compuestos variados como terpenos, grasas, ceras, fenoles, taninos y azúcares, entre otros (Fengel y Wegener, 1989). Los taninos son moléculas formadas por uno o más fenoles (polifenol) con diversos números de radicales hidroxilos (Mann, 1994; Andersen y Markham, 2006), los cuales son principalmente abundantes en los tejidos vegetales de muchas especies de plantas (Rosales et al., 2002; Cano et al., 2002). Los taninos se dividen en dos

diferentes clases: taninos hidrolizables y taninos condensados. Los taninos hidrolizables se caracterizan por ser polímeros heterogéneos formados por ácidos fenólicos, en particular ácido gálico y azúcares simples (Fig. 1A). Son más pequeños y además se encuentran en menor cantidad en plantas y especies leñosas en comparación con los taninos condensados, además son hidrolizados con mayor facilidad (Okuda et al., 1995). Por otro lado, los taninos condensados, son polímeros formados por unidades de flavonoides (un grupo de metabolitos secundarios de plantas), con numerosos radicales hidroxilos (Schofield et al., 2001) (Fig. 1B). Debido a su estructura química, los taninos condensados pueden albergar un mayor número de radicales hidroxilos que los taninos hidrolizables, además de alcanzar un mayor peso molecular y una mayor polimerización; lo que les otorga un número de propiedades biológicas superior al de los otros taninos (Schofield et al., 2001). De hecho, un tanino con al menos 12 grupos hidroxilo es capaz de generar enlaces con proteínas, aminoácidos, alcaloides, entre otros compuestos orgánicos (Asquith y Butler, 1986; Schofield et al., 2001). Los taninos condensados constituyen el 90% de la producción mundial total de taninos comerciales (>220,000 toneladas por año), siendo química y económicamente más interesantes como biopolímeros, ya que se encuentran en más cortezas y maderas comparativamente con los taninos hidrolizables (Glasser et al., 2015; García et al., 2016).



**Fig.1** Estructura básica de un tanino hidrolizable (A) y un tanino condensado (B)











Los taninos condensados presentan múltiples funciones, entre ellas propiedades astringentes, antiinflamatorias, curtir el cuero, antioxidantes, etc. (Adlercreutz y Manzur, 1997; Dixon, 1999, Beecher, 2003), sin embargo, la principal función que cumplen los taninos en las plantas es en la defensa contra herbívoros (mamíferos o insectos que se alimentan de plantas), disminuyendo la absorción de nutrientes en el depredador o generando un efecto de repelencia (Min et al., 2003).

En los últimos 60 años se han desarrollado y utilizado numerosos insecticidas sintéticos, sin embargo, muchos países tienen parcialmente restringido o completamente prohibido el uso de éstos, debido a su efecto nocivo contra la salud humana y la contaminación ambiental, incluida la resistencia genética de especies plagas que amenazan la vida silvestre (Khatun et al., 2011). En los últimos 15 años, el interés por los insecticidas botánicos (sustancias naturales a base de plantas que se utilizan como repelentes de insectos) ha aumentado como resultado de las preocupaciones ambientales y las poblaciones de insectos que se vuelven resistentes a los productos químicos convencionales. Actualmente, hay una tendencia a preferir el uso de insecticidas de base natural,

los cuales suelen poseer una menor toxicidad y ser fácilmente biodegradables. En este contexto, los taninos condensados han demostrado ser insecticidas efectivos con un gran potencial para controlar insectos que puedan dañar plantas de interés agronómico (Siddiqui et al., 2002, Zaidi et al., 2006). Si bien hay algunos taninos específicos, como los provenientes de las especies leñosas Mimosa, Quebracho y Pino que proveen defensa contra herbívoros a algunas especies de plantas (Freeland et al., 1985; Fuller-Thomson, 2019), éstos por lo general son tóxicos para las plantas a elevadas concentraciones. Debido a esto, su uso como insecticida debe considerar previamente la evaluación de su potencial toxicidad no solo para el insecto, sino también para las plantas (Hassanpour et al., 2011; Price et al., 2019). En esta línea, la evaluación del efecto fitoregulador de los taninos (inhibición o estimulación del crecimiento y desarrollo de las plantas) es fundamental a la hora de elaborar estrategias para la obtención de bioproductos para su uso en la agricultura. Los procedimientos que se realizan, siguiendo las guías internacionales, para evaluar los potenciales efectos tóxicos de los taninos sobre las plantas comienzan con la evaluación de ciertas respuestas fisiológicas de plantas en estudios a corto plazo (EPA Environmental Protection Agency, 1996). Una buena medida para determinar la toxicidad de dichos compuestos es la determinación del efecto del compuesto químico sobre la germinación y/o la inhibición del desarrollo de la radícula e hipocótilo de semillas recién germinadas (González et al., 2003; Torres-Rodríguez, 2003). Además, es importante considerar que el uso de una sola especie no aporta información valiosa para entender el posible rol fitoregulador del tanino. En este sentido, es importante comparar los efectos de los taninos sobre diferentes tipos de especies de plantas;

por ejemplo, monocotilédneas y dicotilédneas o bien sobre distintas variedades dentro de una misma especie (García et al., 2017).

Entre las divisiones más frecuentes que se realizan para las plantas con flor (angiospermas), se encuentra la división entre plantas monocotilédneas y dicotilédneas (Fig. 2). Las plantas monocotilédneas son plantas que poseen un solo cotiledón u hoja primera que se forma en el embrión de una planta. En las dicotilédneas, por otra parte, el embrión emite dos cotiledones al crecer, éstas son las hojas primordiales que sirven para proporcionar alimento a la nueva plántula y que, por lo general, no se transforman en hojas adultas.

Embriones	Hojas	Tallos	Piezas florales	Granos de polen
<b>Dicotilédnea</b>				
 Dos cotiledones	 Nervadura normalmente ramificada	 Haces vasculares dispuestos radialmente	 Normalmente cuatro o cinco (o múltiples)	 Tres poros o hendiduras
<b>Monocotilédnea</b>				
 Un cotiledón	 Nervadura paralela	 Haces vasculares esparcidos	 Normalmente tres o múltiples de tres	 Un poro o hendidura

**Fig. 2:** Principales diferencias entre plantas dicotilédneas y monocotilédneas (imagen obtenida de <http://didacticabotanica2015.blogspot.com/2015/04/practica-de-laboratorio-monocotiledonea.html>).

Los taninos presentan una serie de desventajas que dificultan su uso. Entre éstas destacan su baja solubilidad, alta viscosidad y su elevada toxicidad (García, 2014). La modificación química de los taninos, es una estrategia viable para superar estas restricciones fisicoquímicas (García, 2014). Existe mucha información sobre las modificaciones de los taninos de acuerdo a la reactividad de los monómeros, y para ello es necesario considerar la posición y cantidad de grupos hidroxilo (OH), así como también la posición nucleofílica de los anillos que forman el polifenol (García, 2014; Glasser, 2015). Los grupos OH son los grandes donadores de electrones (+M), especialmente en condiciones básicas (pH: 9-12), y son ellos los que formarán el anillo fenóxido que será estabilizado por la resonancia del anillo aromático (García, 2014). Una modificación conocida para la reducción de la acidez de los taninos es una derivatización del polifenol a través del uso de hidróxido de amonio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) (García, et al., 2017). Cuando se lleva a cabo la reacción entre el tanino y la disolución de  $\text{NH}_4\text{OH}$ , se genera una reacción de aminación que modifica parte de los grupos hidroxilos del tanino por  $\text{NH}_2$ , disminuyendo el carácter ácido y por lo tanto la toxicidad del tanino (Baghitori et al., 2013). Sin embargo, estudios que prueben realmente el efecto de esta modificación sobre la variación de la toxicidad de distintos taninos sobre la germinación y el crecimiento de las plantas, aún son necesarios.

### 3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

#### 3.1 Hipótesis

- Los taninos condensados y sus derivados modificados químicamente por aminación, afectan la germinación y el crecimiento de diferentes variedades de plantas monocotiledóneas (*Triticum aestivum* y *Avena sativa*) y dicotiledóneas (*Lactuca sativa* y *Trifolium sativa*).

#### 3.2 Objetivo General

- Estudiar el efecto fitoregulator de taninos condensados, y de su modificación química por aminación, sobre la germinación y el crecimiento de diferentes especies de plantas de interés agronómico.

#### 3.3 Objetivos Específicos

- Evaluar el efecto de taninos condensados no modificados, a diferentes concentraciones, sobre la germinación y el crecimiento (longitud de radícula y longitud de hipocótilo/coleóptilo) de dos especies monocotiledóneas (*Triticum aestivum* y *Avena sativa*) y de dos especies dicotiledóneas (*Lactuca sativa* y *Trifolium sativa*).
- Evaluar el efecto de taninos condensados modificados, a diferentes concentraciones, sobre la germinación y el crecimiento (longitud de radícula y longitud de hipocótilo/coleóptilo) de dos especies monocotiledóneas (*Triticum aestivum* y *Avena sativa*) y de dos especies dicotiledóneas (*Lactuca sativa* y *Trifolium sativa*).

## 4. METODOLOGÍA

### 4.1 Origen de los taninos

Los experimentos se realizaron utilizando taninos provenientes de la corteza de *Acacia mersii* (Mimosa), *Schinopsis balansae* (Quebracho) y *Pinus radiata* (Pino). En el caso de *P. radiata*, se contó con muestras provenientes de dos procedencias: a) Centro de Investigación Bioforest (Pino radiata 1), con plaguicida (información personal) y b) La Unidad Tecnológica de la Universidad de Concepción, UDT (Pino radiata 2), sin plaguicida (información personal).

### 4.2 Prueba de toxicidad con semilla

Para el ensayo de toxicidad (efecto de los diferentes tipos de taninos sobre la germinación y los atributos de crecimiento), se utilizaron semillas de dos especies de plantas monocotiledóneas: *Triticum aestivum* (trigo) y *Avena sativa* (avena) y dos especies dicotiledóneas (*Lactuca sativa* (lechuga) y *Trifolium sativum* (trébol), obtenidas de manera comercial y certificadas, en la ciudad de Temuco, donde se seleccionaron aquellas con similares dimensiones, tamaño, forma y color.

### 4.3 Preparación de los taninos modificados

Se realizó una sustitución nucleofílica a través de aminación, según el protocolo descrito por Braghiroli y colaboradores (2014). Para esto, se disolvió 2 g de tanino en 2 mL de una solución acuosa de amoníaco al 28% p/p. Dicha solución se agitó durante 1 hora, hasta aumentar su viscosidad. Posteriormente, la solución fue dejada por 24 horas en una campana extractora a temperatura ambiente,

formándose dos fases: un precipitado sólido y un sobrenadante. El sólido seco resultante se lavó con agua y se secó a 80° C.

#### **4.4 Disoluciones de taninos condensados y modificados**

Los taninos, previamente extraídos a partir de corteza por el Dr. Danny García, fueron entregados y posteriormente pesados en una balanza analítica, para pesar 0,1 g de muestra. La muestra extraída fue disuelta en 5 mL de dimetilsulfóxido (DMSO), ya que, debido a la capacidad de los taninos para formar grandes complejos, son frecuentemente insolubles en agua. La solución del tanino en DMSO fue llevada a 1000 mL con agua destilada en un matraz Erlenmeyer. La solución resultante constituye la solución stock de la muestra de cada tanino y la de los derivados modificados por aminación, obteniéndose concentraciones de 100, 10, 1, 0,1 y 0,01 mg/L (Diaz et al., 2004).

#### **4.5 Bioensayos de germinación y crecimiento:**

El experimento de germinación consistió en colocar un disco de papel filtro sobre la base de una placa Petri, y sobre el papel filtro 10 semillas. Este procedimiento se realizó para cada una de las especies de plantas. Las semillas fueron colocadas con ayuda de una pinza, evitando las bolsas de aire en la superficie. Las placas fueron regadas con 2 mL de disolución de los siguientes tratamientos de regadío: 1) tanino condensado 100 mg/L, 2) tanino condensado 10 mg/L, 3) tanino condensado 1 mg/L, 4) tanino condensado 0,1 mg/L, 5) tanino condensado 0,01 mg/L, 6) tanino modificado 100 mg/L, 7) tanino modificado 10 mg/L, 8) tanino modificado 1 mg/L, 9) tanino modificado 0,1 mg/L, 10) tanino modificado 0,01 mg/L, 11) agua destilada mezclada con DMSO (control) (N= 3

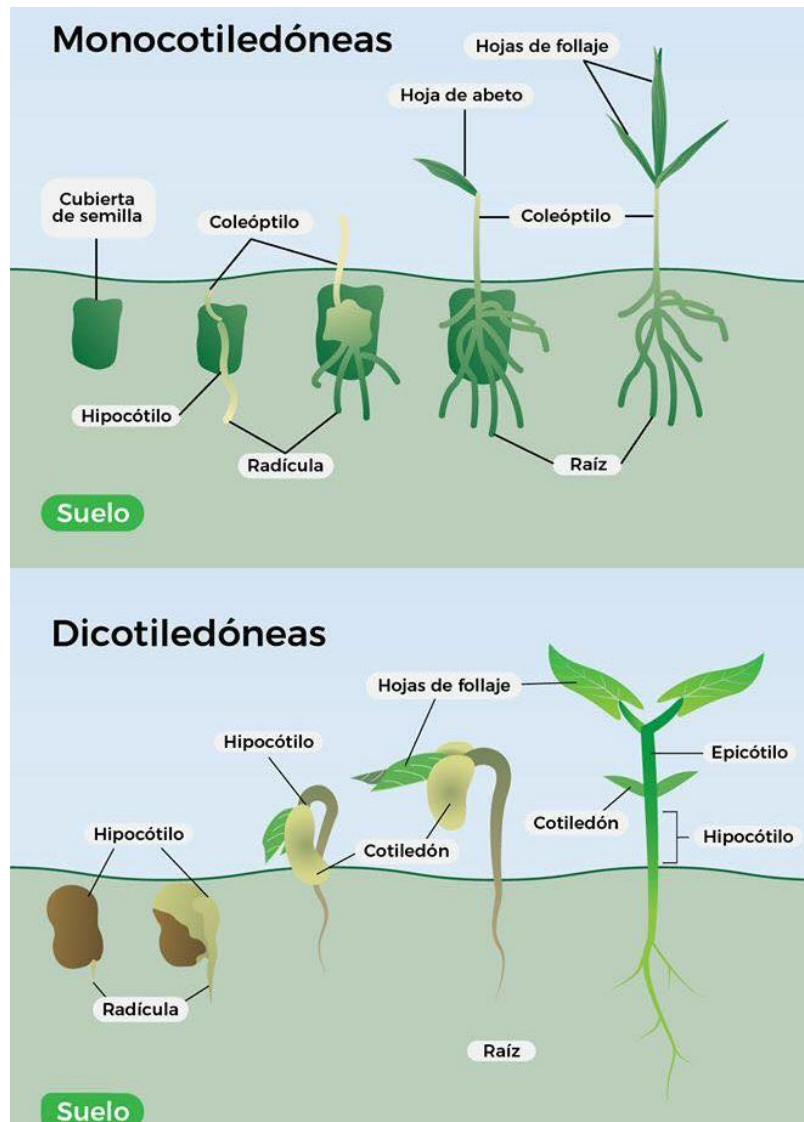
placas/tratamiento/especie de planta). Estos ensayos se realizaron con los taninos provenientes de cada origen de corteza (Mimosa, Quebracho y Pino). Dado que las semillas requieren de oscuridad para su germinación, las placas Petri fueron incubadas en oscuridad durante un periodo de 120 horas (5 días) a una temperatura de 22° C.

Tabla 1: Condiciones experimentales para el desarrollo del germinación y crecimiento.

Bioensayo	Características
Tipo de ensayo	estático
temperatura	22° C.
Calidad de luz	oscuridad
Volumen de la solución de prueba (mL)	2
Semillas de réplica	10
Réplicas	3
Duración de la prueba (horas)	120
Efecto medido	Inhibición de la germinación
Resultado final	Porcentaje de inhibición en la germinación
Aceptabilidad de los resultados	Germinación > 90%
Control	Agua destilada con 5 mL de DMSO

#### **4.6 Evaluación de germinación y posterior crecimiento:**

Las plántulas que se desarrollaron durante el transcurso de la prueba de germinación, se clasifican como plántulas normales o como plántulas anormales. Las plántulas normales son aquellas que poseen una estructura adecuada de raíces y brotes esenciales para el desarrollo posterior de las plantas. Las plántulas anormales, por el contrario, son aquellas incapaces de desarrollarse más y surgen deficiencia, descomposición o debilidad en sus sistemas de raíces y brotes (Hanson et al., 2007). Se midió el porcentaje de germinación en cada placa Petri, (número de plántulas normales y anormales) y posteriormente se midió la longitud de la radícula (mm), y la longitud del coleóptilo/hipocótilo (mm). La radícula corresponde a la primera parte de una plántula que emerge de la semilla durante el proceso de germinación, por lo tanto, es la raíz embrionaria de la planta y crece hacia abajo en el suelo (Hanson et al., 2007) (Fig. 3), el coleóptilo y el hipocótilo corresponden a la estructura que emerge inicialmente desde la semilla hacia arriba para plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas, respectivamente (Fig. 3).



**Fig. 3:** Germinación y emergencia en plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas (imagen propiedad de Infoagronomo: <https://www.facebook.com/infoagronomo/photos/a.1072302776235177/1370756303056488/?type=3&theater>).

#### **4.7 Análisis estadísticos:**

En el caso de los datos que presentaron homogeneidad de varianza y normalidad, se realizó el test paramétrico ANOVA de una vía. Por otro lado, con aquellos datos que no cumplieron con homogeneidad de varianza y normalidad, se realizó el test no paramétrico Kruskal-Wallis. En ambos análisis, se evaluó de forma separada tanto para los taninos modificados como no modificados el efecto de las 5 concentraciones (0,01, 0,1, 1, 10 y 100 mg/L) sobre el porcentaje de germinación, la elongación de la radícula (mm) y la elongación del hipocótilo/coleóptilo (mm). Estos dos análisis (ANOVA y Kruskal-Wallis) se realizaron por separado para cada especie de planta y para cada origen de tanino. Posteriormente, se realizó un test post hoc de Dunnett (en el caso de las ANOVA) y una comparación por pares (en el caso de Kruskal-Wallis), con el fin de comparar diferencias significativas entre las diferentes concentraciones y el tratamiento control (DMSO+ H<sub>2</sub>O). Todos los análisis estadísticos se desarrollaron con el programa Statistica 8.0 (2007).

## 5. RESULTADOS

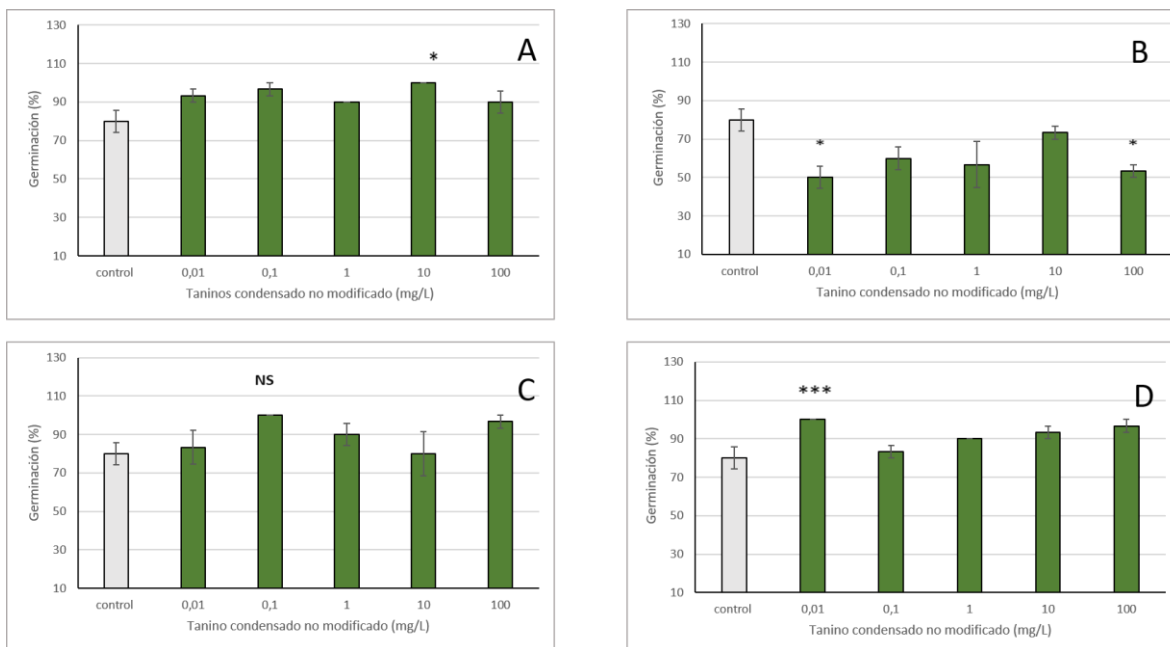
### 5.1 Especies monocotiledóneas

### 5.1 Especies monocotiledóneas

#### Efectos sobre el porcentaje de germinación

##### Tanino condensado no modificado

Se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino condensado no modificado proveniente de los orígenes de Mimosa, Quebracho y Pino radiata 2 sobre la germinación. El tanino proveniente de Mimosa a una concentración de 10 mg/L afectó positivamente el porcentaje de germinación (Fig. 1A, Tabla 1), mientras que tanino proveniente de Quebracho a la concentración de 0,01 y 100 mg/L afectó negativamente el porcentaje de germinación (Fig. 1B, Tabla 2). En forma contraria, no se encontró un efecto significativo del tanino proveniente de Pino radiata 1 sobre este atributo (Fig. 1C, Tabla 3), mientras que el tanino proveniente de Pino radiata 2, a una concentración de 0.01 mg/L tuvo un efecto positivo sobre esta variable (Fig. 1D, Tabla 4).

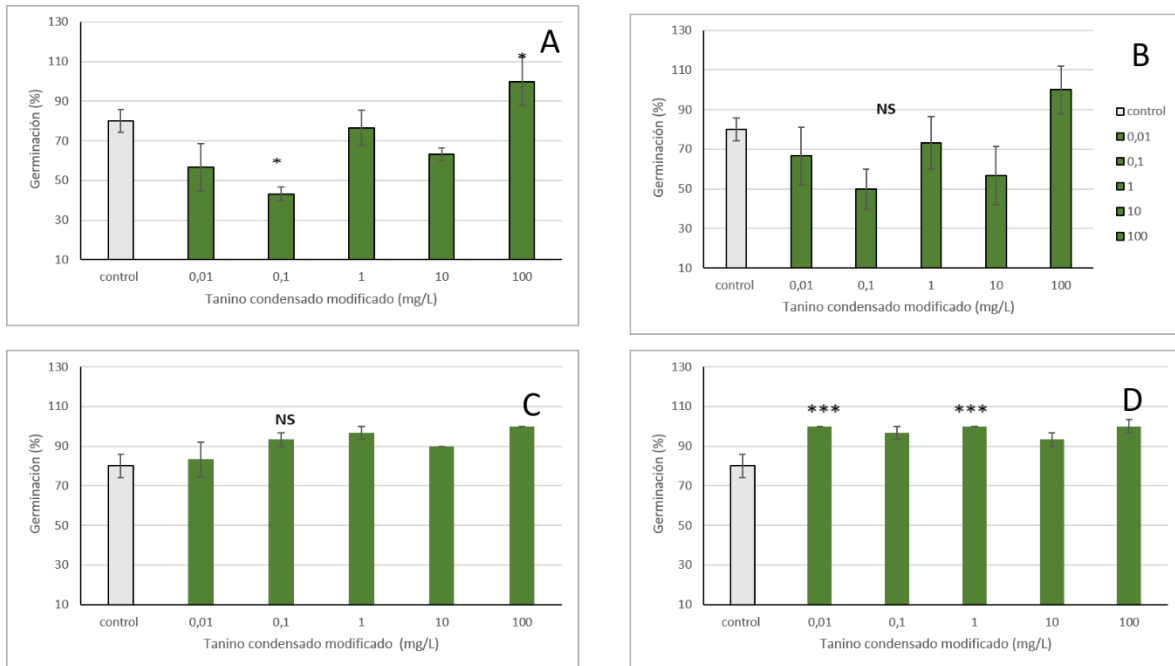


**Figura 1:** Efecto de la concentración de taninos no modificados de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre el porcentaje de germinación de las semillas de avena. Asteriscos significativos sobre las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , NS (no significativo).

### Tanino condensado modificado

Se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino condensado modificado proveniente de Mimosa y Pino radiata 2 sobre el porcentaje de germinación. El tanino proveniente de Mimosa a una concentración de 0,1 mg/L tuvo un efecto negativo sobre este atributo, sin embargo, a una concentración de 100 mg/L afectó positivamente el porcentaje de germinación (Fig. 2A, Tabla 1). En forma opuesta, no se encontró un efecto significativo del tanino condensado modificado proveniente de Quebracho y Pino radiata 1 (Figs. 2B y 2C, Tablas 2 y

3). El tanino modificado proveniente de Pino radiata 2 a concentraciones de 0,01 y 1 mg/L tuvo un efecto positivo sobre el porcentaje de germinación (Fig. 2D, Tabla 4).

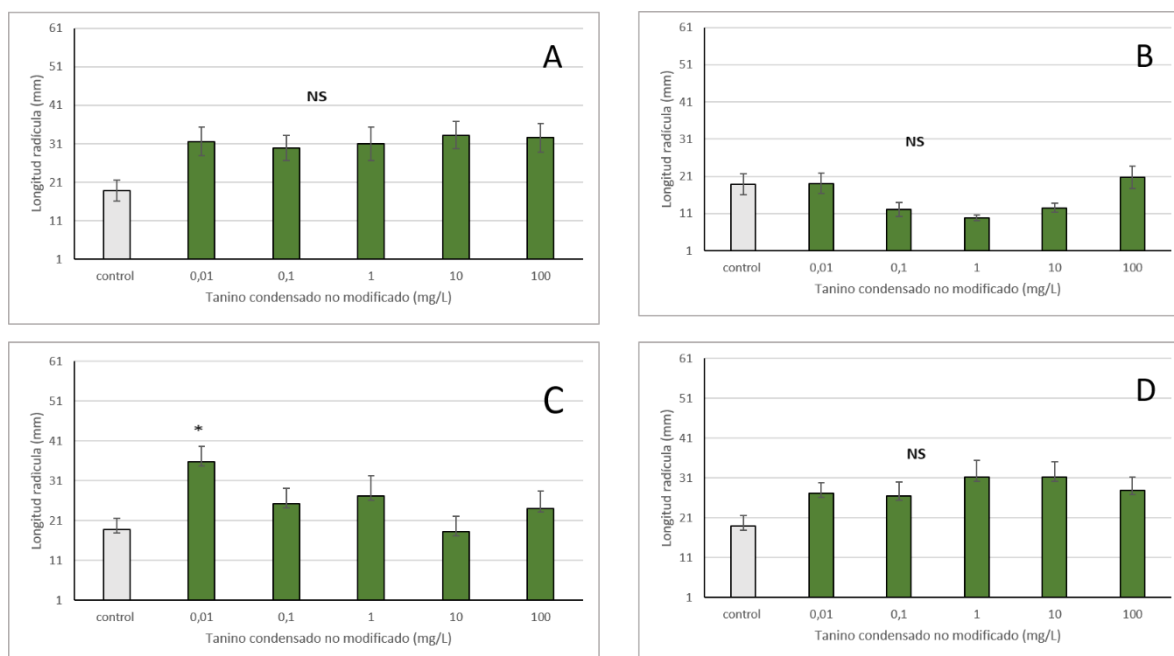


**Figura 2:** Efecto de la concentración de taninos modificados de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre el porcentaje de germinación de las semillas de avena. Asteriscos significativos sobre las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \* p < 0,05, \*\* p < 0,01, \*\*\* p < 0,001, (NS: no significativo).

## Efectos sobre la longitud de la radícula

### Tanino condensado no modificado

Solo se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino condensado no modificado proveniente de Pino radiata 1 sobre la longitud de la radícula. No se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino proveniente de Mimosa y Quebracho sobre la elongación de la radícula (Figs. 3A y 3B, Tablas 1 y 2). El tanino proveniente de Pino radiata 1 a la concentración de 0,01 mg/L tuvo un efecto positivo sobre esta esta variable (Fig. 3C, Tabla 3) mientras que el tanino proveniente de Pino radiata 2 no mostró un efecto significativo sobre la elongación de la radícula (Fig. 3D, Tabla 4).

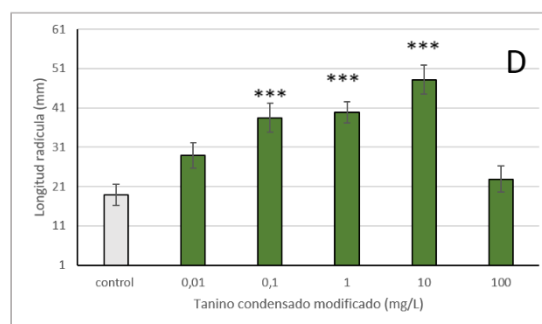
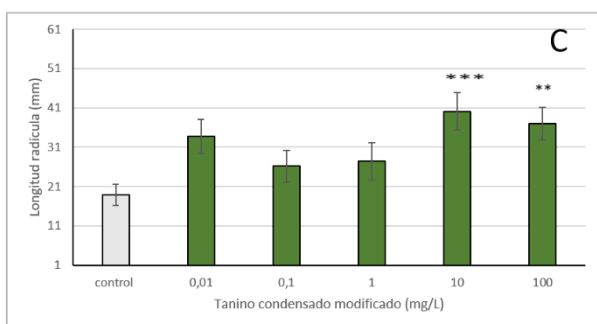
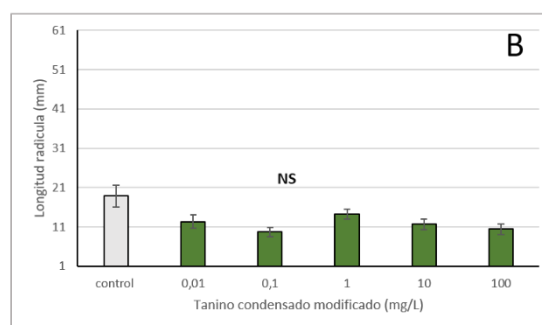
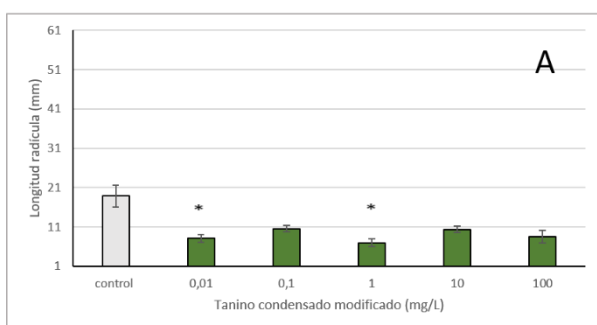


**Figura 3:** Efecto de la concentración de taninos no modificado de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre la elongación de la radícula de las semillas de avena. Asteriscos significativos sobre

las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , (NS: no significativo).

### Tanino condensado modificado

Se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino modificado de los orígenes provenientes de Mimosa y ambos tipos de Pinos sobre la elongación de la radícula. El tanino proveniente de Mimosa a concentraciones de 0,01 y 1 mg/L tuvo un efecto negativo sobre esta variable comparado con el control (Fig. 4A, Tabla 1). En forma opuesta, el tanino proveniente de Quebracho no mostró un efecto significativo sobre este atributo (Fig. 4B, Tabla 2). El tanino proveniente de Pino radiata 1, a concentraciones de 10 y 100 mg/L, tuvo un efecto positivo sobre la elongación de la radícula (Fig. 4C, Tabla 3), mientras que el tanino proveniente de Pino radiata 2 a concentraciones intermedias (0,1, 1 y 10 mg/L) tuvo un efecto positivo sobre este atributo (Fig. 4D, Tabla 4).

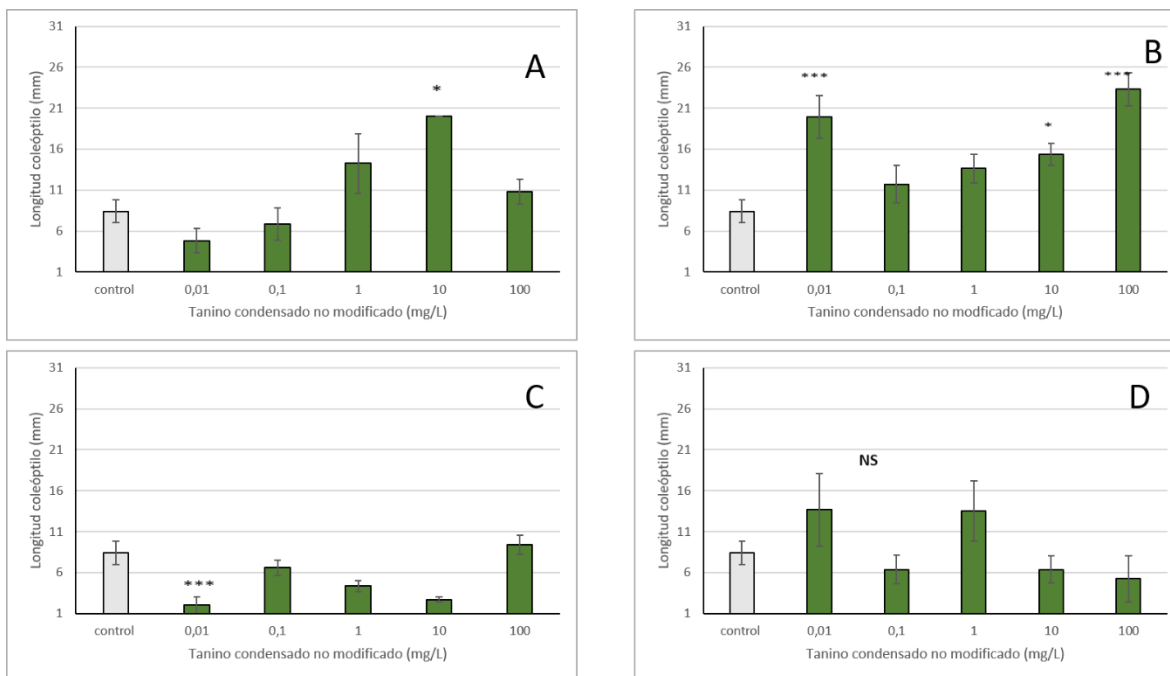


**Figura 4:** Efecto de la concentración de taninos modificados de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre la elongación de la radícula de las semillas de avena. Asteriscos significativos sobre las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , (NS: no significativo).

### **Efectos sobre la longitud del coleóptilo**

#### *Tanino condensado no modificado*

Se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino condensado no modificado proveniente de Mimosa, Quebracho y Pino radiata 1 sobre la elongación del coleóptilo. El tanino proveniente de Mimosa a la concentración de 10 mg/L tuvo un efecto positivo sobre la elongación del coleóptilo (Fig. 5A, Tabla 1), igualmente el tanino proveniente de Quebracho a concentraciones de 0,01, 10 y 100 mg/L tuvo un efecto positivo sobre este atributo (Fig. 5B, Tabla 2). El tanino proveniente de Pino radiata 1 a la concentración de 0,01 mg/L tuvo un efecto negativo sobre esta variable (Fig. 5C, Tabla 3) y en forma opuesta, no se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino proveniente de Pino radiata 2 sobre la elongación de la radícula (Fig. 5D, Tabla 4).

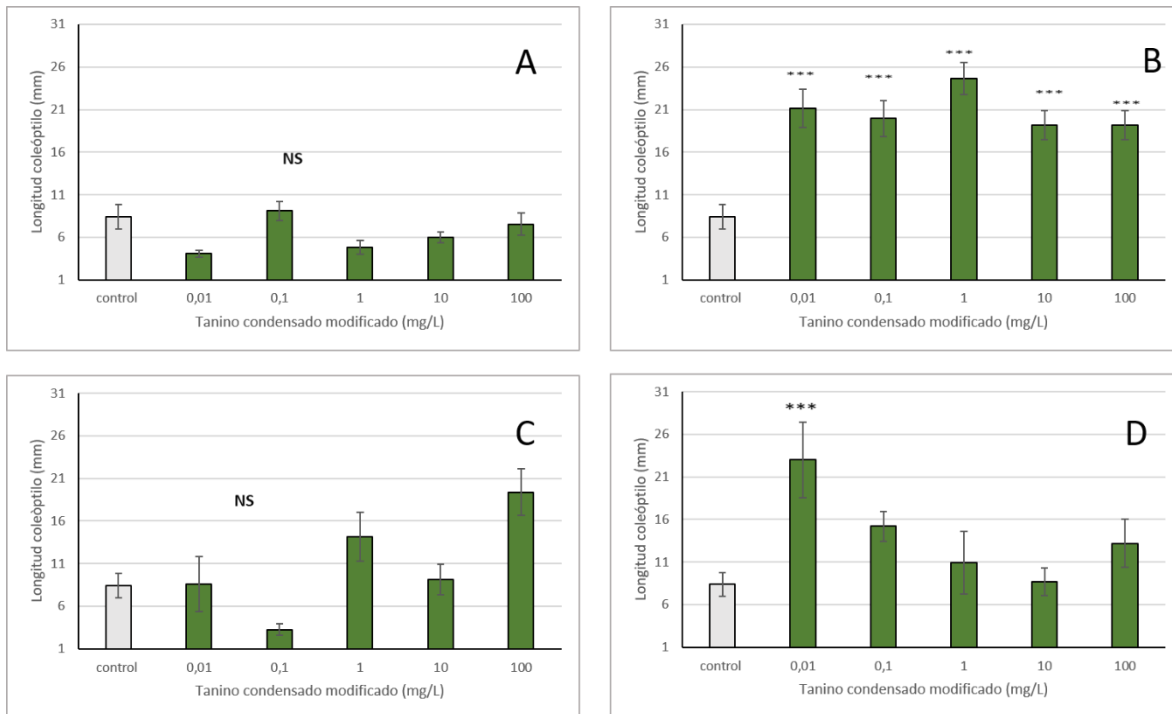


**Figura 5:** Efecto de la concentración de taninos no modificados de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre la elongación del coleóptilo de las semillas de avena. Asteriscos significativos sobre las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , (NS: no significativo).

#### Tanino condensado modificado

Se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino condensado modificado proveniente de los orígenes de Quebracho y Pino radiata 2 sobre la elongación del coleóptilo. Para el tanino proveniente de Mimosa, no se encontró un efecto significativo de la concentración sobre la elongación del coleóptilo (Fig. 6A, Tabla 1). El tanino proveniente de Quebracho a todas las concentraciones (0,01, 0,1, 1, 10 y 100 mg/L) afectó positivamente la elongación del coleóptilo (Fig. 6B, Tabla 2). En forma opuesta, no se encontró un efecto significativo de la

concentración del tanino proveniente de Pino radiata 1 sobre esta variable (Fig. 6C, Tabla 3), mientras que el tanino proveniente de Pino radiata 2 a una concentración de 0,01 mg/L tuvo un efecto positivo sobre este atributo (Fig. 6D, Tabla 4).



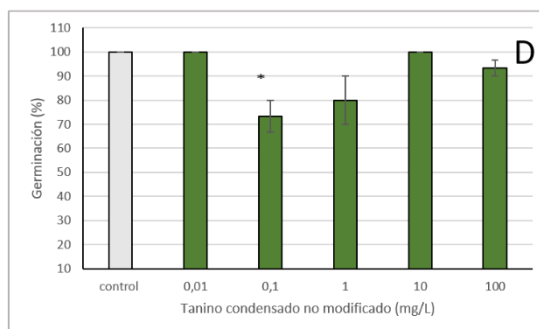
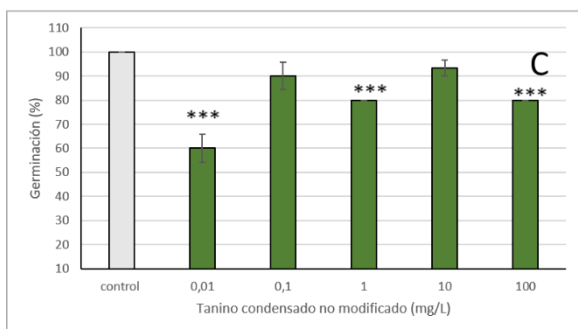
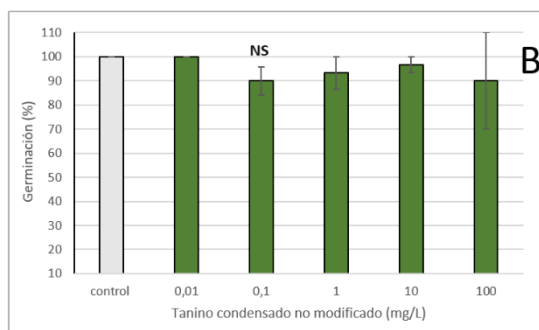
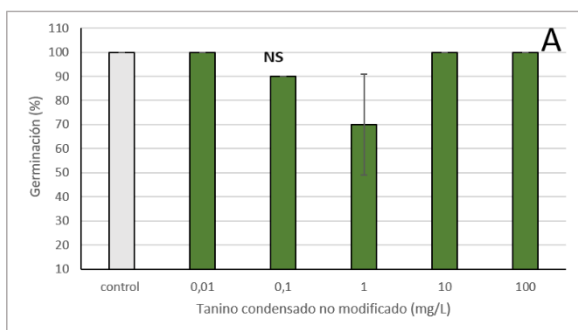
**Figura 6:** Efecto de la concentración de taninos modificados de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre la elongación del coleóptilo de las semillas de avena. Asteriscos significativos sobre las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , (NS: no significativo).

## Trigo

### Efectos sobre el porcentaje de germinación

#### Tanino condensado no modificado

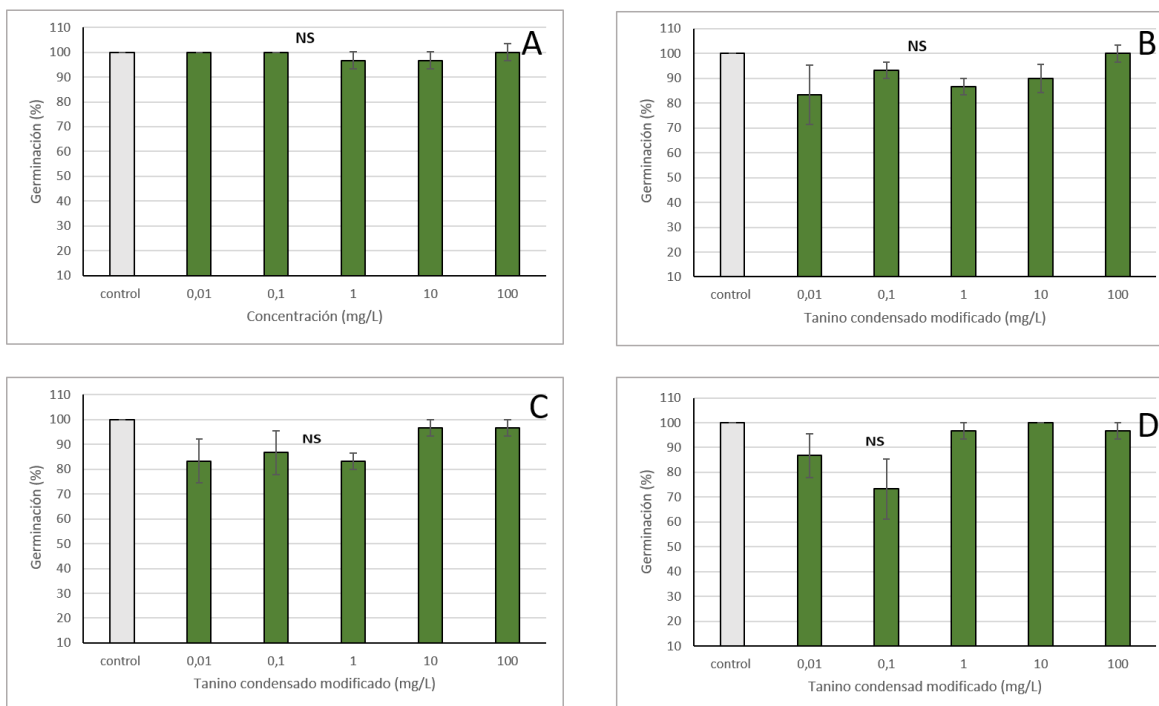
Se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino condensado no modificado proveniente de los orígenes de ambos tipos de Pinos sobre el porcentaje de germinación. No se encontró un efecto significativo del tanino de los orígenes de Mimosa y Quebracho sobre este atributo (Figs. 7A y 7B, Tablas 5 y 6), sin embargo, los taninos provenientes de ambos tipos de Pino afectaron negativamente la germinación. El tanino proveniente de Pino radiata 1 a las concentraciones de 0,01, 0,1 y 100 mg/L afectó negativamente el porcentaje de germinación (Fig. 7C, Tabla 7), mientras que el tanino proveniente de Pino radiata 2 a la concentración de 0,01 mg/L afectó negativamente esta variable (Fig. 7D, Tabla 8).



**Figura 7:** Efecto de la concentración de taninos no modificados de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre el porcentaje de germinación de las semillas de trigo. Asteriscos significativos sobre las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , (NS: no significativo).

Tanino condensado modificado

No se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino modificado de ninguno de los orígenes testeados (Figs. 8A, 8B, 8C y 8D, Tablas 5, 6, 7 y 8).

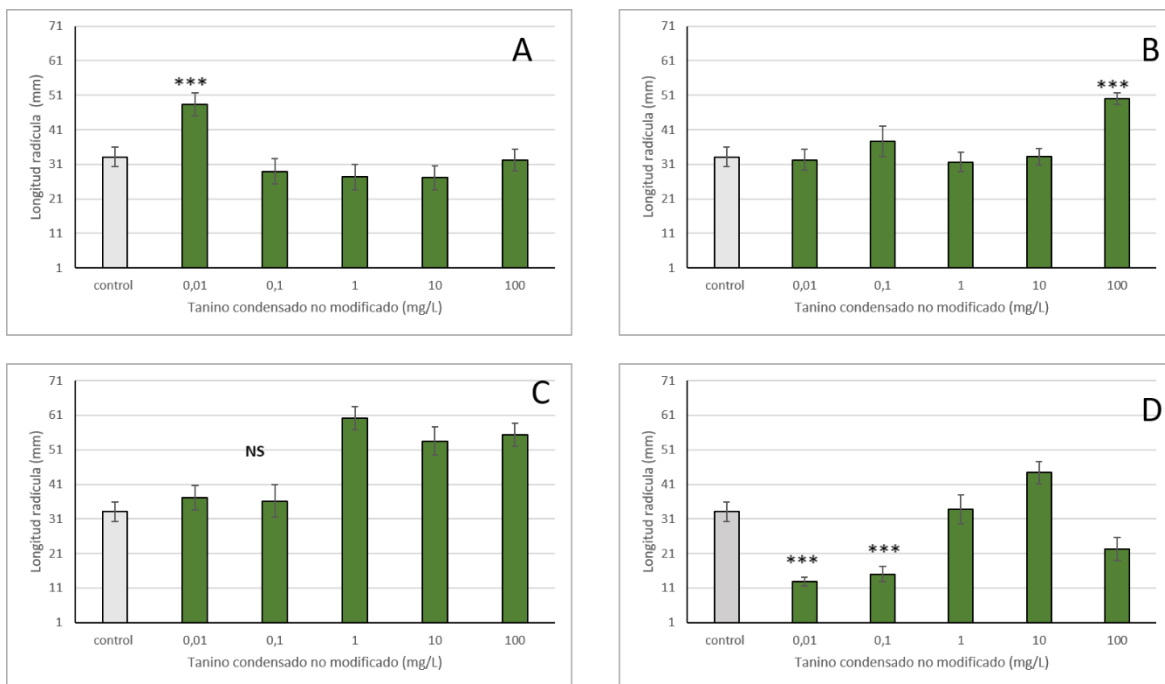


**Figura 8:** Efecto de la concentración de taninos modificados de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre el porcentaje de germinación de las semillas de trigo. Asteriscos significativos sobre las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , (NS: no significativo).

### **Efecto sobre la elongación de la radícula**

#### *Tanino condensado no modificado*

Se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino condensado no modificado de los orígenes de Mimosa, Quebracho y Pino radiata 2 sobre la elongación de la radícula. El tanino proveniente de Mimosa a la concentración de 0,01 mg/L afectó positivamente esta variable (Fig. 9A, Tabla 5). En forma similar, el tanino proveniente de Quebracho, a la concentración de 100 mg/L, afectó positivamente la elongación de la radícula (Fig. 9B, Tabla 6). En forma opuesta, no se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino extraído de Pino radiata 1 sobre esta variable (Fig. 9C, Tabla 7), mientras que el tanino proveniente de Pino radiata 2 a concentraciones de 0,01 y 0,1 mg/L afectó negativamente la elongación de la radícula (Fig. 9D, Tabla 8).

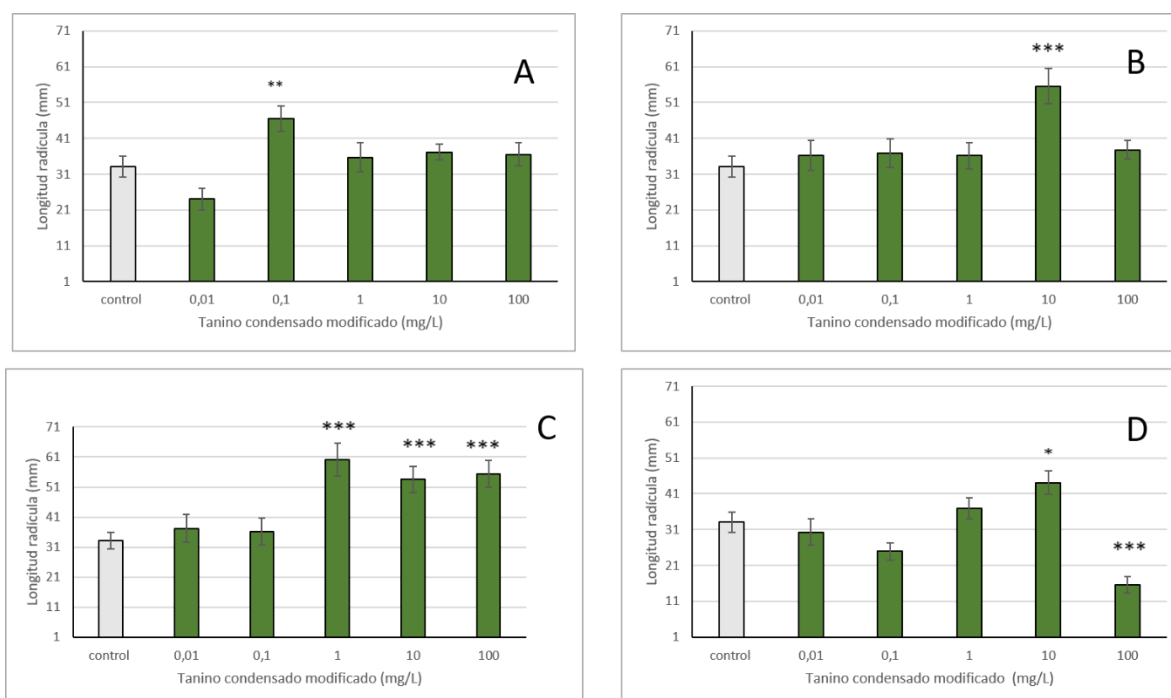


**Figura 9:** Efecto de la concentración de taninos no modificados de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre la elongación de la radícula de las semillas de trigo. Asteriscos significativos sobre las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , (NS: no significativo).

### Tanino condensado modificado

Se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino modificado proveniente de los cuatro orígenes. El tanino modificado proveniente de Mimosa a una concentración de 0,1 mg/L tuvo un efecto positivo sobre la elongación de la radícula (Fig. 10A, Tabla 5). El tanino proveniente de Quebracho a una concentración de 10 mg/L tuvo un efecto positivo sobre este atributo (Fig. 10B, Tabla 6), mientras que el tanino modificado proveniente de Pino radiata 1, a concentraciones de 1, 10 y 100 mg/L, tuvo un efecto positivo sobre la elongación

de la radícula (Fig. 10C, Tabla 7). Similarmente, el tanino modificado proveniente de Pino radiata 2 a una concentración de 10 mg/L tuvo un efecto positivo sobre este atributo, sin embargo, a una concentración de 100 mg/L tuvo un efecto negativo sobre la elongación de la radícula (Fig. 10 D, Tabla 8).

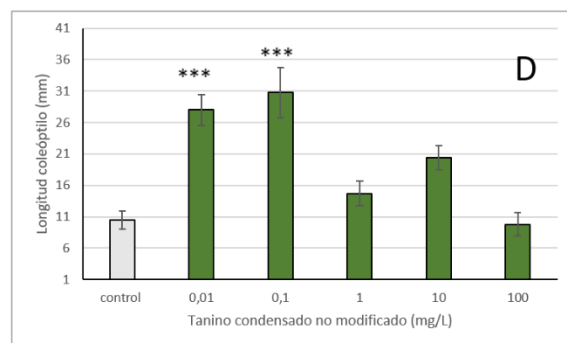
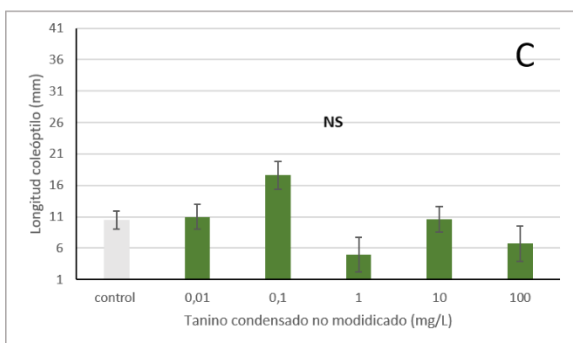
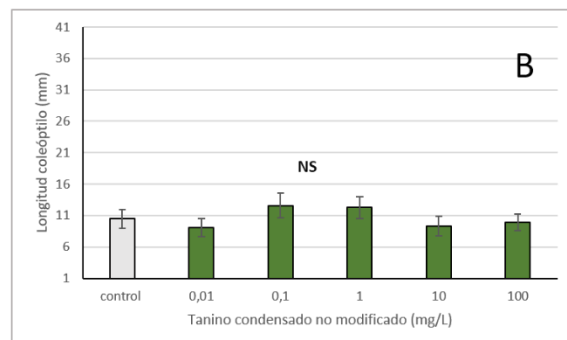
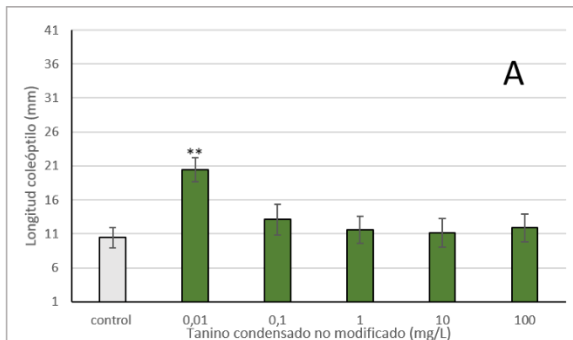


**Figura 10:** Efecto de la concentración de taninos modificados de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre la elongación de la radícula de las semillas de trigo. Asteriscos significativos sobre las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , (NS: no significativo).

## Efecto sobre la elongación del coleóptilo

### Tanino condensado no modificado

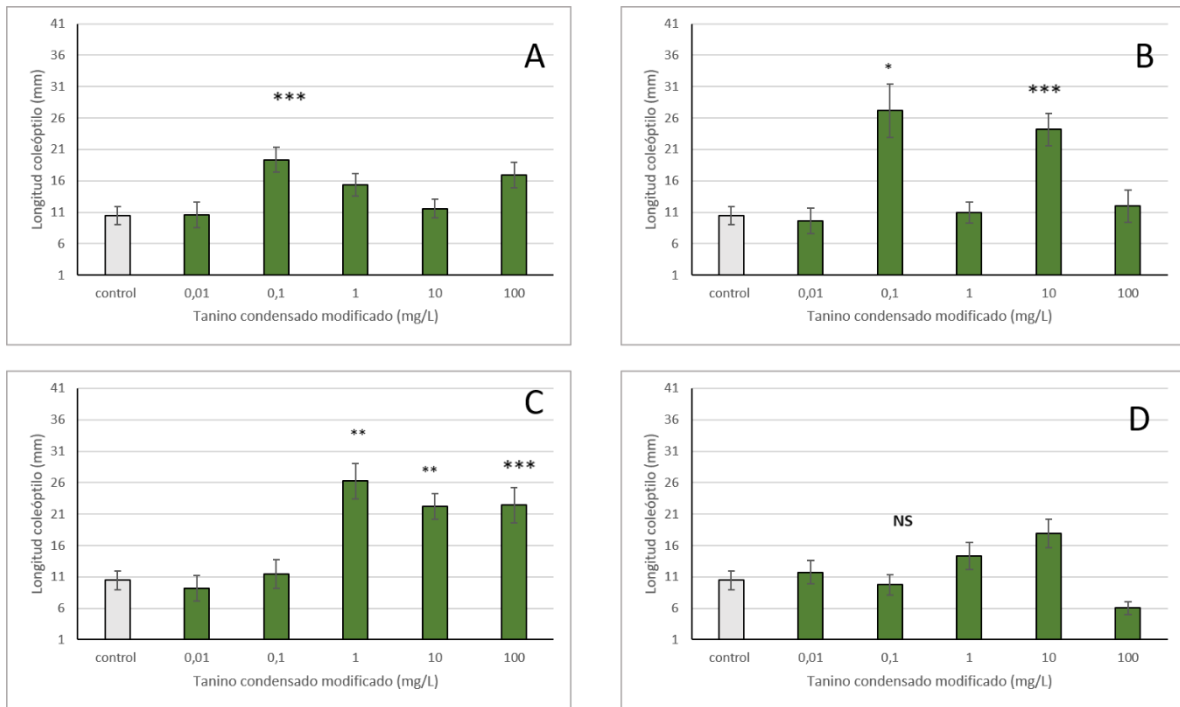
Se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino condensado no modificado proveniente de Mimosa y Pino radiata 2 sobre la elongación del coleóptilo. El tanino de Mimosa a la concentración de 0,01 mg/L tuvo un efecto positivo sobre la elongación del coleóptilo (Fig. 11A, Tabla 5). En forma opuesta, no se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino no modificado provenientes de los orígenes de Quebracho y Pino radiata 1 sobre esta variable (Figs. 11B y 11C, Tablas 6 y 7). El tanino no modificado proveniente de Pino radiata 2 tuvo un efecto positivo a bajas concentraciones (0,01 y 0,1 mg/L) sobre la elongación del coleóptilo (Fig. 11D, Tabla 8).



**Figura 11:** Efecto de la concentración de taninos no modificados de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre la elongación del coleóptilo de las semillas de trigo. Asteriscos significativos sobre las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , (NS: no significativo).

#### Tanino condensado modificado

Se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino modificado proveniente de Mimosa, Quebracho y Pino radiata 1 sobre la elongación del coleóptilo. El tanino modificado proveniente de Mimosa, a una concentración de 0,1 mg/L, tuvo un efecto positivo sobre esta variable (Fig. 12A, Tabla 5), mientras que el tanino proveniente de Quebracho a las concentraciones de 0,1 y 10 mg/L tuvo un efecto positivo sobre este atributo (Fig. 12B, Tabla 6). El tanino modificado proveniente de Pino radiata 1, a concentraciones de 1, 10 y 100 mg/L, tuvo un efecto positivo sobre la elongación del coleóptilo (Fig. 12C, Tabla 7). En forma opuesta, no se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino de Pino radiata 2 sobre este atributo (Fig. 12D, Tabla 8).



**Figura 12:** Efecto de la concentración de taninos modificados de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre la elongación del coleóptilo de las semillas de trigo. Asteriscos significativos sobre las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , (NS: no significativo).

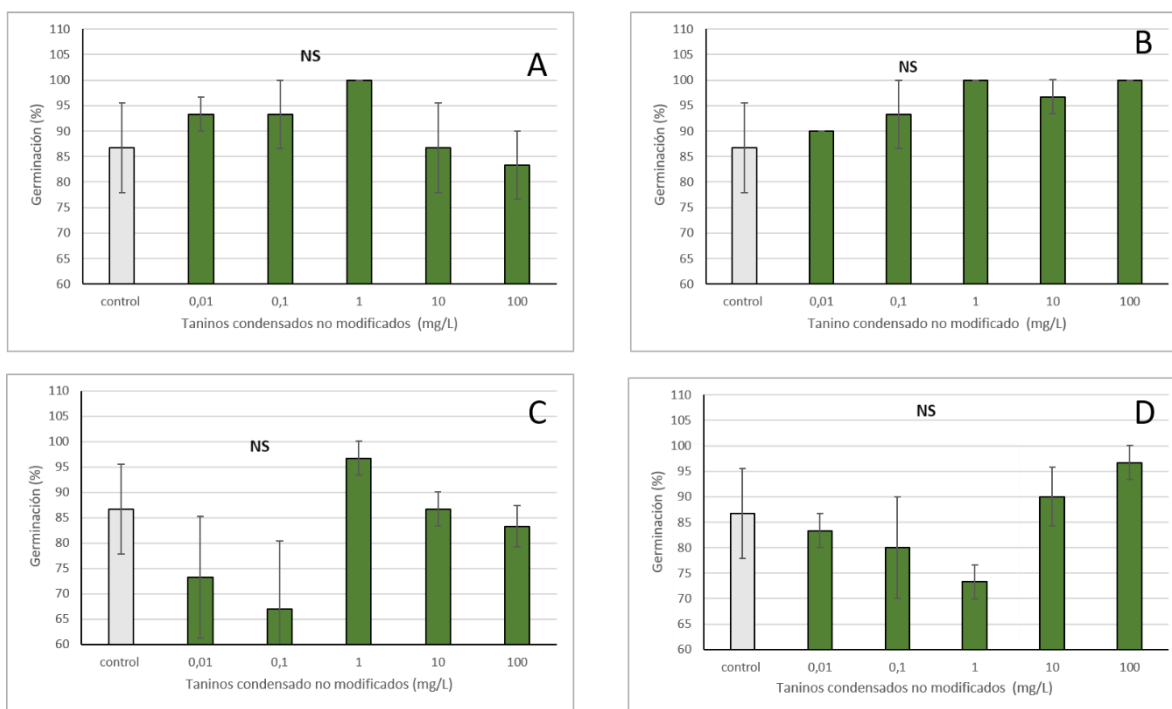
## 5.2 Especies dicotiledóneas

### Trébol

#### Efectos sobre el porcentaje de germinación

##### Tanino condensado no modificado

No se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino condensado no modificado sobre el porcentaje de germinación, independiente del origen de éste (Figs. 13a, 13b, 13c y 13d, Tablas 9, 10, 11 y 12).

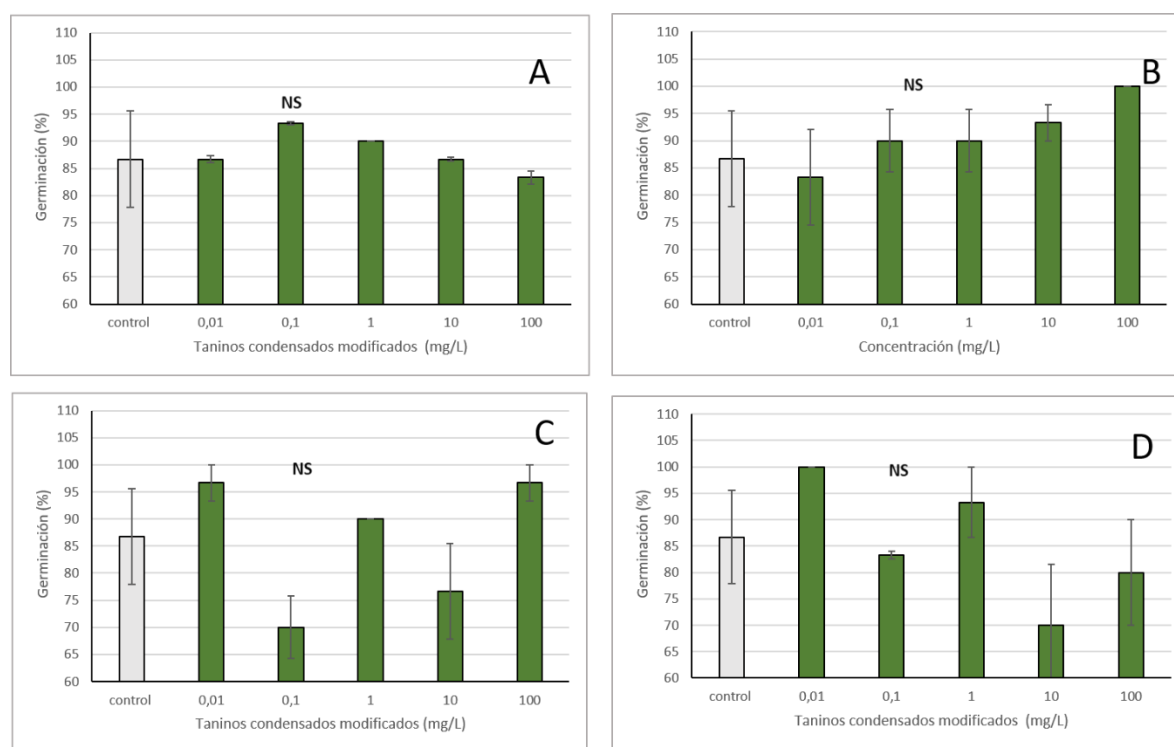


**Figura 13:** Efecto de la concentración de taninos no modificados de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre el porcentaje de germinación de las semillas de trébol. Asteriscos significativos sobre

las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , (NS: no significativo).

### Tanino condensado modificado

En forma similar a lo observado con el tanino condensado no modificado, tampoco se observó un efecto significativo de la concentración de los taninos condensados modificados sobre el porcentaje de germinación, independiente de su origen (Figs. 14A, 14B, 14C y 14D, Tablas 9, 10, 11 y 12)

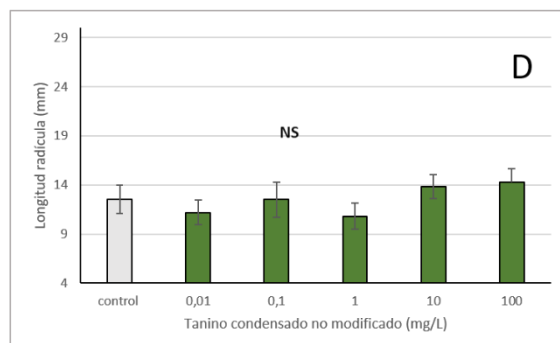
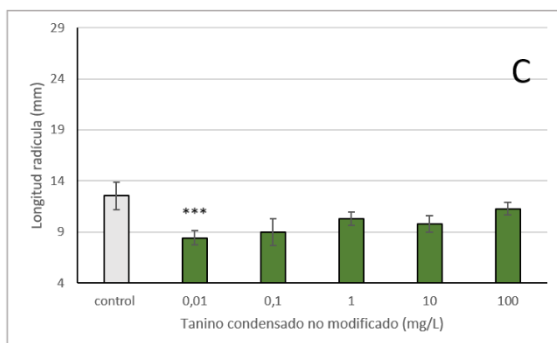
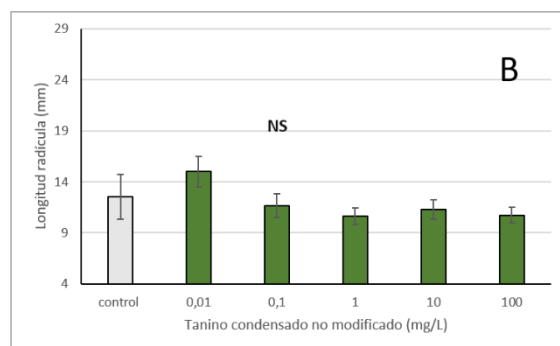
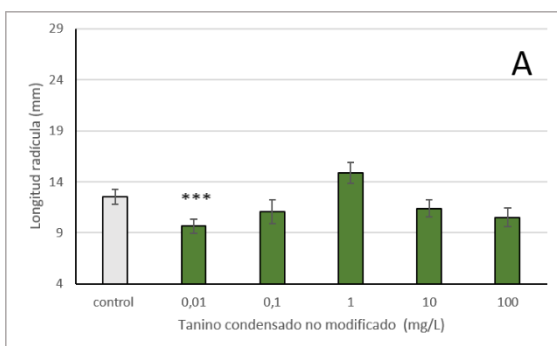


**Figura 14:** Efecto de la concentración de taninos modificados de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre el porcentaje de germinación de las semillas de trébol. Asteriscos significativos sobre las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , (NS: no significativo).

## Efectos sobre la elongación de la radícula

### Tanino condensado no modificado

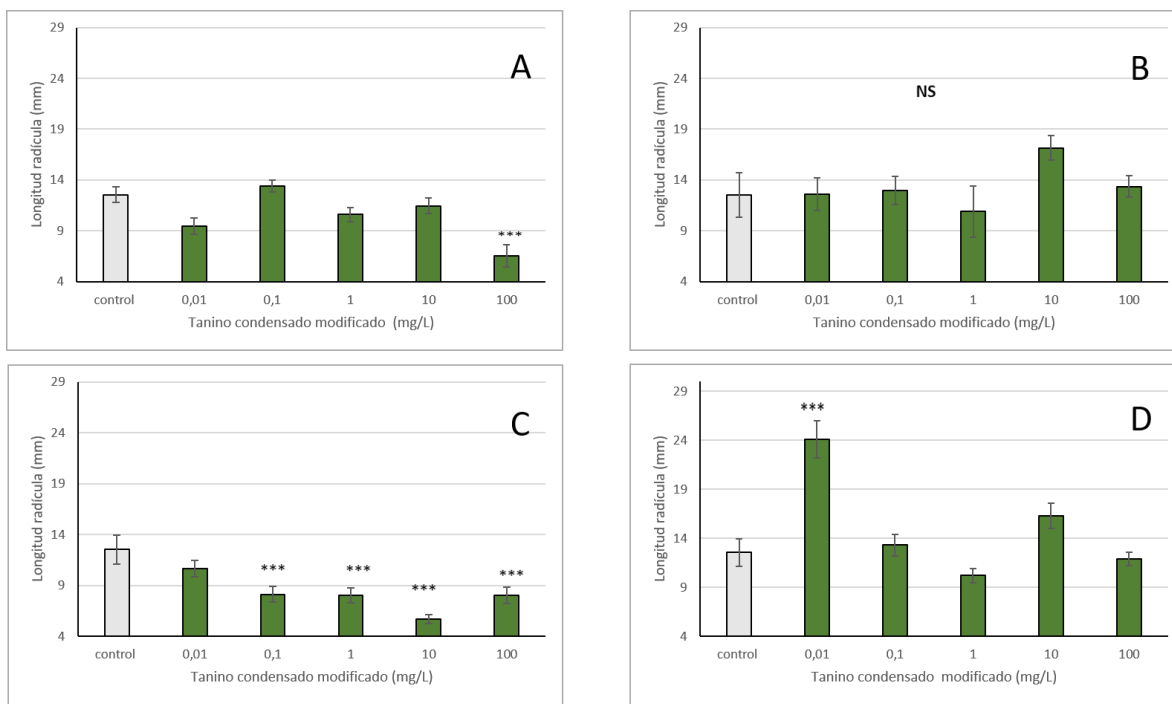
Se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino condensado no modificado proveniente de los orígenes de Mimosa y Pino radiata 1. El tanino proveniente de Mimosa a una concentración de 0,01 mg/L tuvo un efecto negativo sobre la elongación de la radícula (Fig. 15A, Tabla 9). En forma contraria, no se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino proveniente de Quebracho sobre este atributo (Fig. 15B, Tabla 10). En forma similar al tanino extraído de Mimosa, el tanino proveniente de Pino radiata 1, a una concentración de 0,01 mg/L, tuvo un efecto negativo sobre la elongación de la radícula (Fig. 15C, Tabla 11). Similar a lo observado con el tanino proveniente de Quebracho, no se encontró un efecto significativo del tanino proveniente de Pino radiata 2 sobre la elongación de la radícula (Fig. 15D, Tabla 12).



**Figura 15:** Efecto de la concentración de taninos no modificados de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre la elongación de la radícula de las semillas de trébol. Asteriscos significativos sobre las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , (NS: no significativo).

#### Tanino condensado modificado

Se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino condensado modificado proveniente de los orígenes de Mimosa y ambos tipos de Pinos. El tanino proveniente de Mimosa a una concentración de 100 mg/L, tuvo un efecto negativo sobre la elongación de la radícula (Fig. 16A, Tabla 9). En forma contraria, no se observó un efecto significativo de la concentración del tanino proveniente de Quebracho sobre este atributo (Fig. 16B, Tabla 10). El tanino proveniente de Pino radiata 1, a concentraciones de 0,1, 1, 10 y 100 mg/L, tuvo un efecto negativo sobre este atributo (Fig. 16C, Tabla 11), mientras que el tanino proveniente de Pino radiata 2 a la concentración de 0,01 mg/L tuvo un efecto positivo sobre la elongación de la radícula (Fig. 16D, Tabla 12).



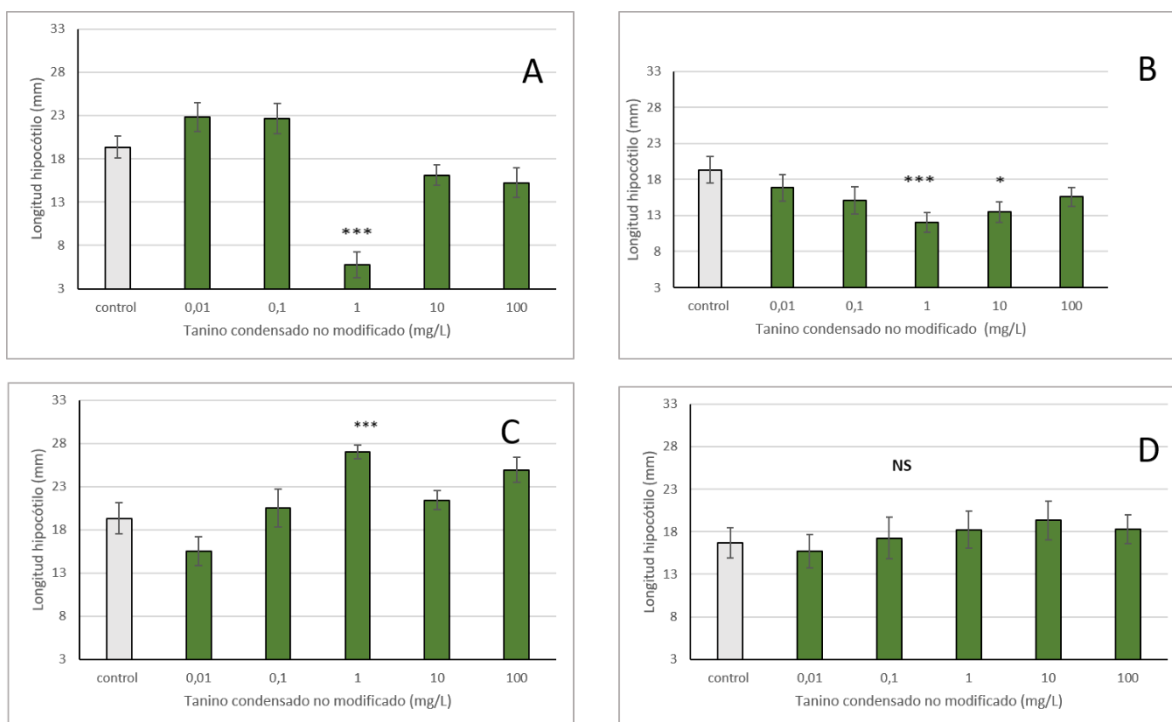
**Figura 16:** Efecto de la concentración de taninos modificados de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre la elongación de la radícula de las semillas de trébol. Asteriscos significativos sobre las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ .

### Efectos sobre la elongación del hipocótilo

#### Tanino condensado no modificado

Se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino condensado no modificado proveniente de los orígenes de Mimosa, Quebracho y Pino radiata 1 sobre la elongación del hipocótilo. El tanino proveniente de Mimosa a la concentración de 1 mg/L tuvo un efecto negativo sobre esta variable (Fig. 17A, Tabla 9), mientras que el tanino proveniente de Quebracho a las concentraciones

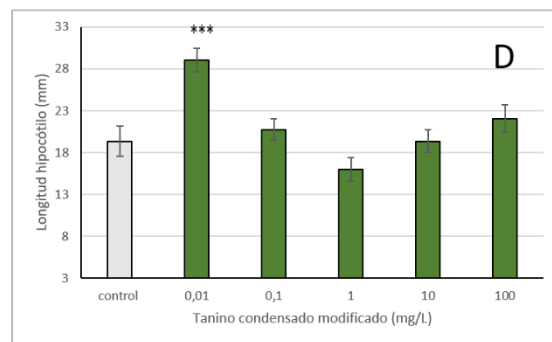
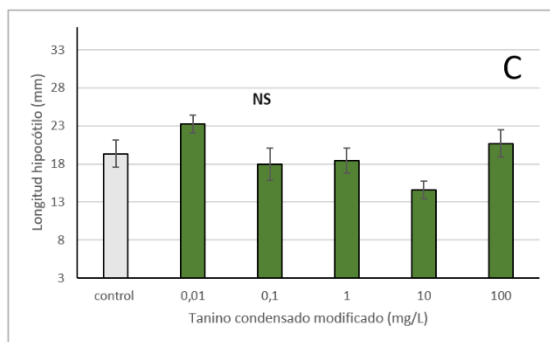
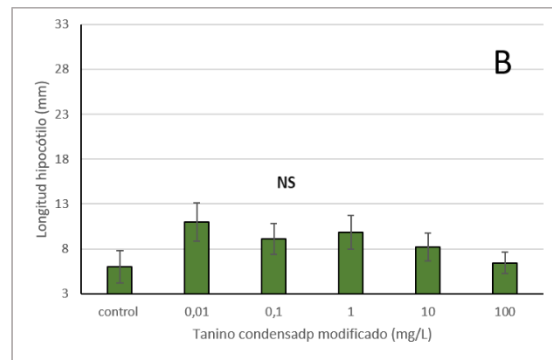
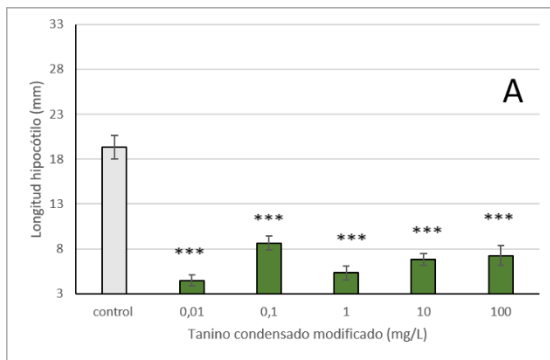
de 1 y 10 mg/L tuvo efectos negativos sobre este atributo (Fig. 17B, Tabla 10). El tanino proveniente de Pino Radiata 1, a una concentración de 1 mg/L, tuvo un efecto positivo sobre esta variable (Fig. 17C, Tabla 11). En forma opuesta, no se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino proveniente de Pino radiata 2 sobre la elongación del hipocótilo (Fig. 17D, Tabla 12).



**Figura 17:** Efecto de la concentración de taninos no modificados de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre la elongación del hipocótilo de las semillas de trébol. Asteriscos significativos sobre las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , (NS: no significativo).

### Tanino condensado modificado

Se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino condensado modificado proveniente de los orígenes de Mimosa y Pino radiata 2 sobre la elongación del hipocótilo. El tanino proveniente de Mimosa, a todas las concentraciones (0,01, 0,1, 1, 10 y 100 mg/L), afectó negativamente la elongación del hipocótilo (Fig. 18A, Tabla 9). En forma opuesta, no se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino de los orígenes de Quebracho y Pino radiata 1 sobre este atributo (Figs. 18B y 18C, Tablas 10 y 11), mientras que el tanino proveniente de Pino radiata 2 a la concentración de 0,01 mg/L tuvo un efecto positivo sobre la elongación del hipocótilo (Fig. 18d, Tabla 12).



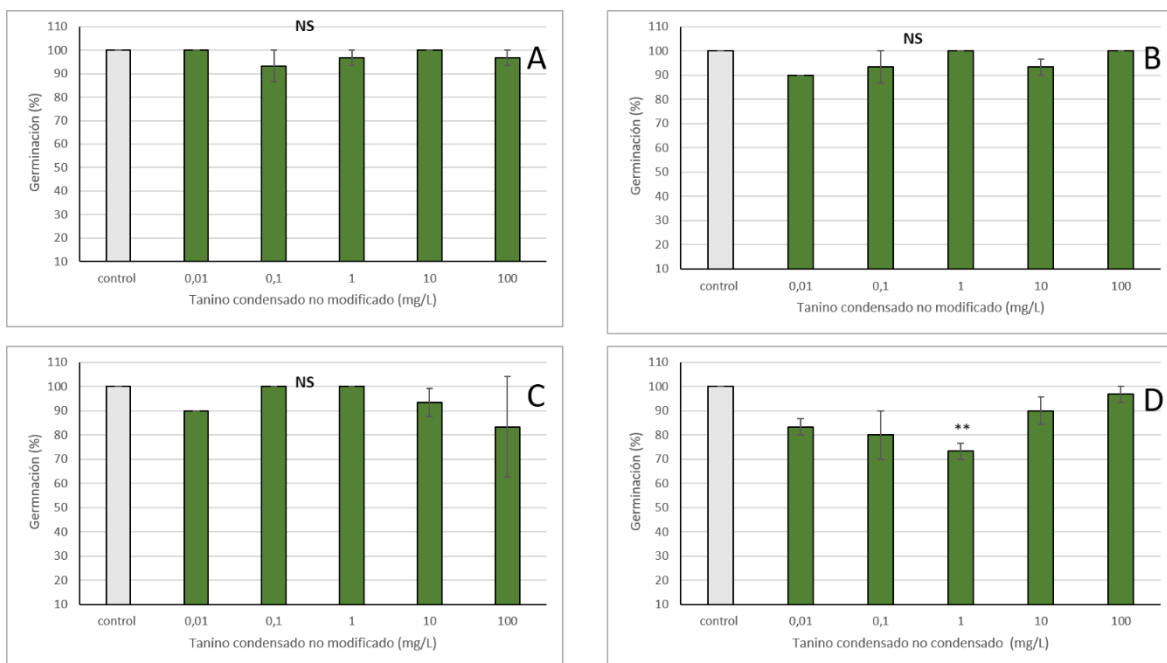
**Figura 18:** Efecto de la concentración de taninos modificados de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre la elongación del hipocótilo de las semillas de trébol. Asteriscos significativos sobre las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , (NS: no significativo).

## **Lechuga**

### **Efectos sobre el porcentaje de germinación**

#### **Tanino condensado no modificado**

Solo se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino condensado no modificado proveniente del origen de Pino radiata 2 sobre el porcentaje de germinación de lechuga. No se observó un efecto de la concentración del tanino proveniente de los orígenes de Mimosa, Quebracho y Pino Radiata 1 sobre este atributo (Figs. 19A, 19B y 19C, Tablas 13, 14 y 15). El tanino proveniente de Pino radiata 2, solo a la concentración 1 mg/L, tuvo un efecto negativo sobre el porcentaje de germinación (Fig. 19D, Tabla 16).

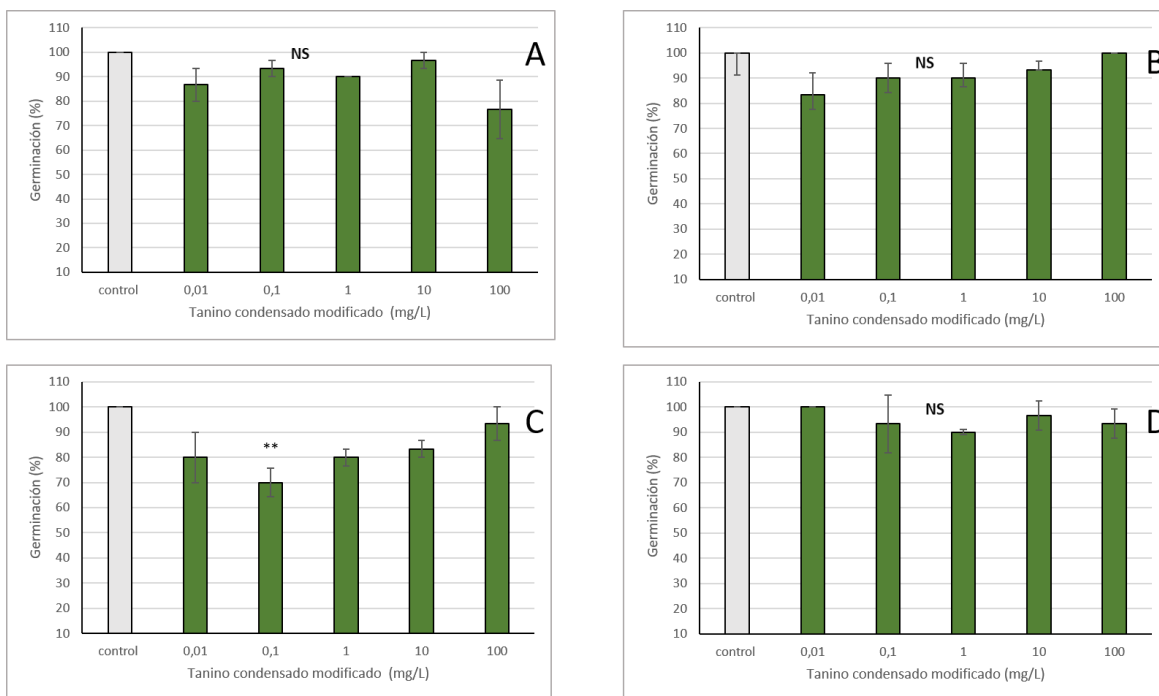


**Figura 19:** Efecto de la concentración de taninos no modificados de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre el porcentaje de germinación de las semillas de lechuga. Asteriscos significativos sobre las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , (NS: no significativo).

### Tanino condensado modificado

Solo se encontró un efecto de la concentración del tanino condensado modificado proveniente de Pino radiata 1 sobre el porcentaje de germinación. En forma contraria, no se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino modificado de los orígenes provenientes de Mimosa y Quebracho sobre este atributo (Figs. 20A y 20B, Tablas 13 y 14). El tanino proveniente de Pino radiata 1, a la concentración de 0,1 mg/L, tuvo un efecto negativo sobre esta variable (Fig. 20c, Tabla 15), mientras que no se encontró un efecto significativo de la

concentración del tanino proveniente de Pino radiata 2 sobre el porcentaje de germinación (Fig. 20D, Tabla 16).

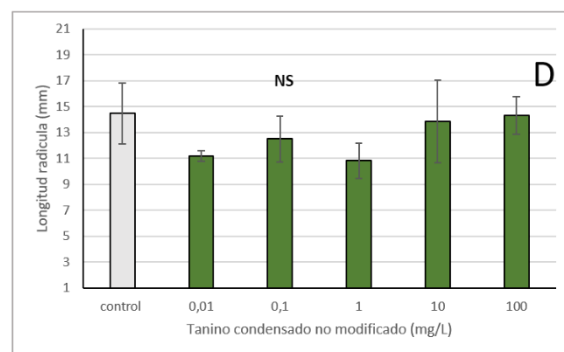
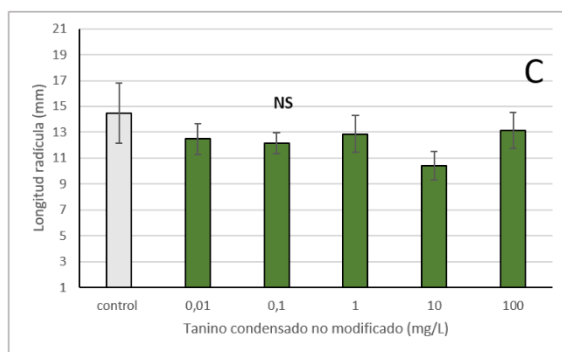
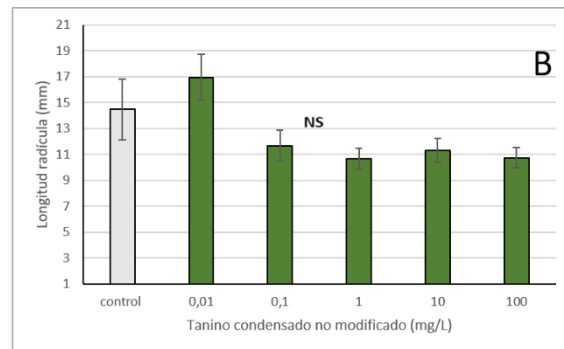
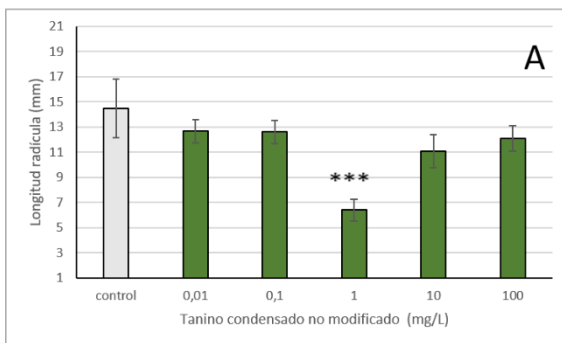


**Figura 20:** Efecto de la concentración de taninos modificados de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre el porcentaje de germinación de las semillas de lechuga. Asteriscos significativos sobre las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , (NS: no significativo).

## Efectos sobre la elongación de la radícula

### Tanino condensado no modificado

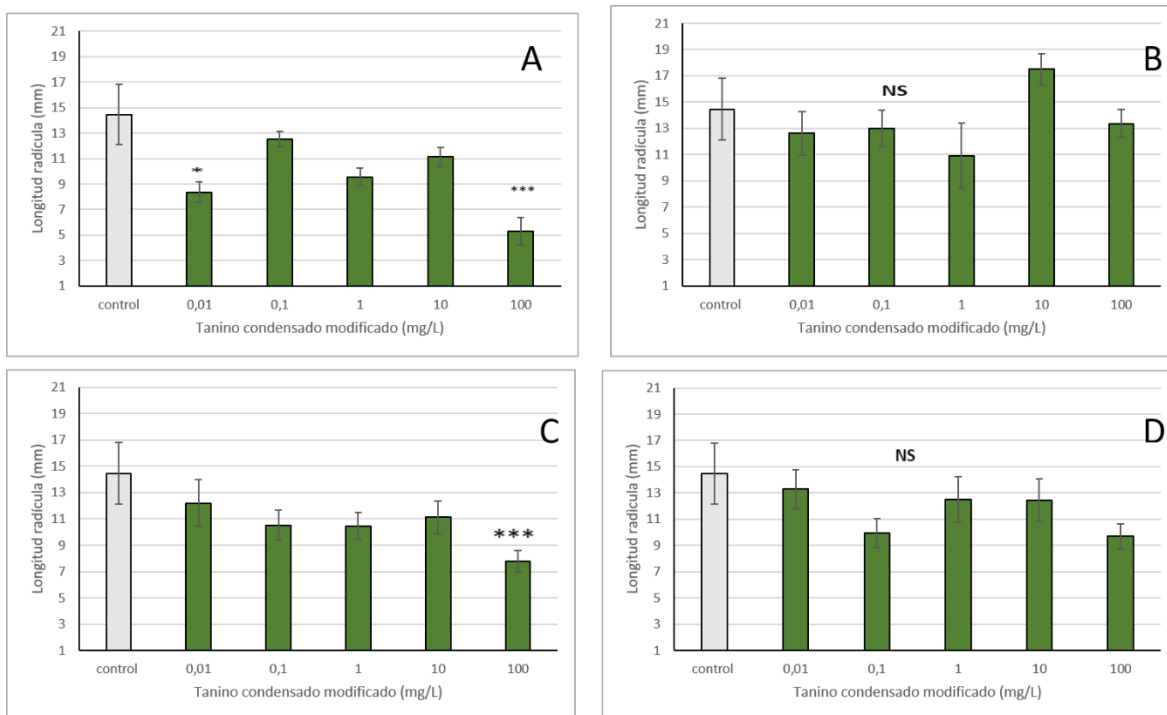
Solo se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino condensado no modificado del origen proveniente de Mimosa sobre la elongación de la radícula. El tanino proveniente de Mimosa a la concentración de 1 mg/L tuvo un efecto negativo sobre esta variable (Fig. 21A, Tabla 13). En forma opuesta, no se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino no modificado provenientes de Quebracho y ambos tipos de pinos sobre la elongación de la radícula (Figs. 21B, 21C y 21D, Tablas 14, 15 y 16).



**Figura 21:** Efecto de la concentración de taninos no modificados de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre la elongación de la radícula de las semillas de lechuga. Asteriscos significativos sobre las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , (NS: no significativo).

#### Tanino condensado modificado

Se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino condensado modificado de los orígenes de Mimosa y Pino radiata 1 sobre la elongación de la radícula. El tanino proveniente de Mimosa, se observó que a las concentraciones de 0,01 y 100 mg/L, tuvo un efecto negativo sobre esta variable (Fig. 22A, Tabla 13). En forma opuesta, no se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino condensado modificado proveniente de Quebracho sobre la elongación de la radícula (Fig. 22B, Tabla 14). El tanino proveniente de Pino radiata 1, se observó que a la concentración de 100 mg/L tuvo un efecto negativo sobre esta variable (Fig. 22C, Tabla 15), mientras que los taninos extraídos de Quebracho y el tanino proveniente de Pino radiata 2 no afectaron significativamente la elongación de la radícula (Fig. 22D, Tabla 16).



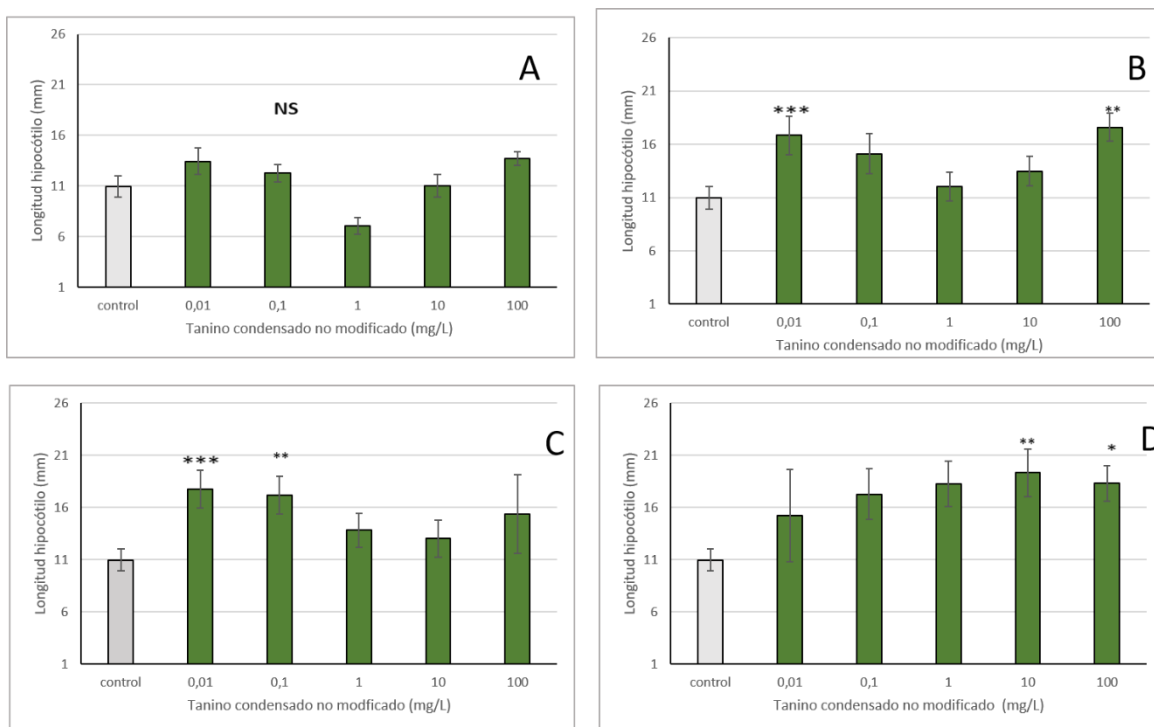
**Figura 22:** Efecto de la concentración de taninos modificados de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre la elongación de la radícula de las semillas de lechuga. Asteriscos significativos sobre las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , (NS: no significativo).

### Efectos sobre la elongación del hipocótilo

#### Tanino condensado no modificación

Se encontró un efecto significativo de la concentración de los orígenes provenientes de Quebracho y ambos tipos de Pinos sobre la elongación del hipocótilo. En forma opuesta, se observó que la concentración del tanino no modificado del origen de Mimosa no tuvo un efecto significativo sobre este atributo (Fig. 23A, Tabla 13). El tanino de Quebracho, a concentraciones de 0,01 y 100

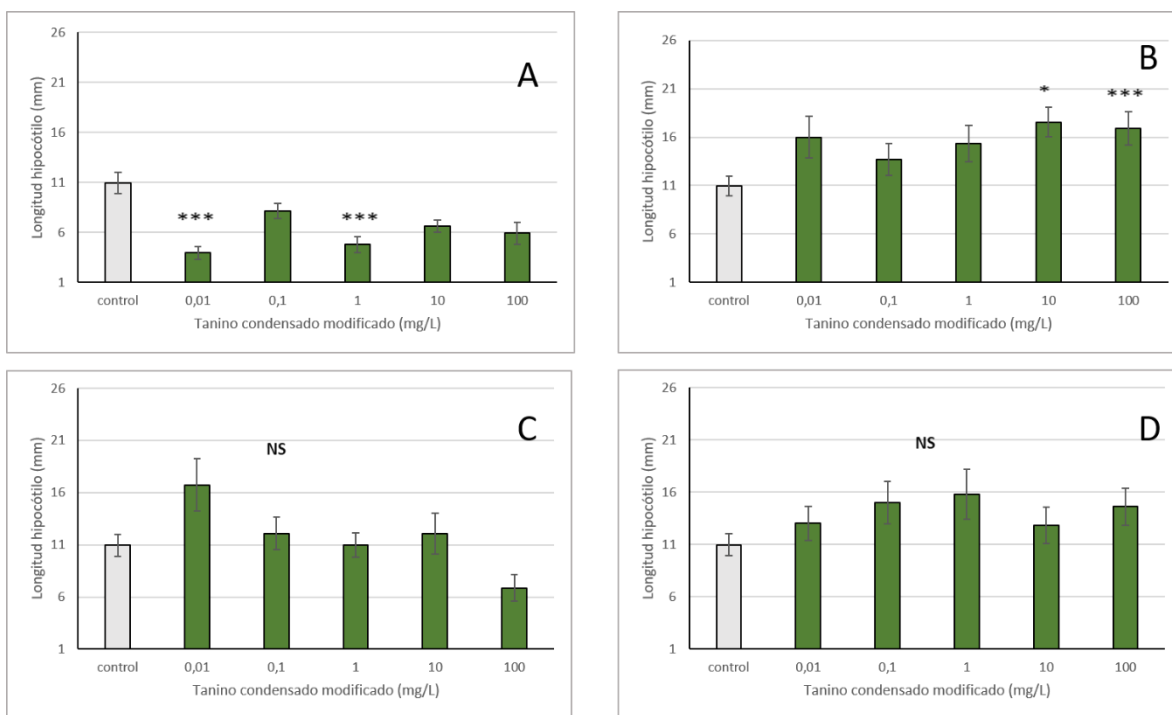
mg/L, tuvo un efecto positivo sobre este atributo (Fig. 23B, Tabla 14), mientras que el tanino proveniente de Pino radiata 1 a bajas concentraciones (0,01 y 0,1 mg/L) tuvo un efecto positivo sobre la elongación del hipocótilo (Fig. 23C, Tabla 15). El tanino no modificado proveniente de Pino radiata 2 a altas concentraciones (10 y 100 mg/L) tuvo un efecto positivo sobre este atributo (Fig. 23D, Tabla 16).



**Figura 23:** Efecto de la concentración de taninos no modificados de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre la elongación del hipocótilo de las semillas de lechuga. Asteriscos significativos sobre las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , (NS: no significativo).

### Tanino condensado modificado

Se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino condensado modificado de los orígenes provenientes de Mimosa y Quebracho sobre la elongación del hipocótilo. El tanino modificado proveniente de Mimosa a las concentraciones de 0,01 y 1 mg/L tuvo un efecto negativo sobre esta variable (Fig. 24A, Tabla 13), mientras que el tanino modificado proveniente de Quebracho a concentraciones de 10 y 100 mg/L tuvo un efecto positivo sobre este atributo (Fig. 24B, Tabla 14). En forma opuesta, no se encontró un efecto significativo de la concentración del tanino condensado modificado de los orígenes de ambos tipos de Pinos sobre la elongación del hipocótilo (Figs. 24C y 24D, Tablas 15 y 16).



**Figura 24:** Efecto de la concentración de taninos modificados de los cuatro orígenes: A) Mimosa, B) Quebracho, C) Pino radiata 1 y D) Pino radiata 2 sobre la elongación del hipocótilo de las semillas de lechuga. Asteriscos significativos

sobre las barras indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , (NS: no significativo).

## 6. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Los resultados encontrados en este estudio mostraron que en las especies monocotiledóneas (avena y trigo), el tanino modificado con  $\text{NH}_4\text{OH}$ , tuvo un parcial efecto fitoregulador positivo sobre el crecimiento de la elongación de la radícula y coleóptilo; esto independiente del origen del tanino y la concentración de éste. En forma opuesta, se observó que para las especies dicotiledóneas (trébol y lechuga), el tanino modificado, independiente del origen y la concentración, mostró una tendencia como un efecto fitoregulador negativo, al igual que el tanino no modificado, del porcentaje de germinación, la elongación de la radícula y la elongación del hipocótilo. Los resultados sugieren que el uso de taninos sin modificar como insecticida sería nocivo para las plantas, debido a su notable efecto negativo sobre la germinación y el crecimiento. Aparentemente, la modificación del tanino con aminación, podría tener un potencial para disminuir la toxicidad de estos metabolitos secundarios, lo cual al usarse como un posible insecticida natural, podría generar menos efectos adversos sobre las plantas en comparación con el tanino no modificado. Sin embargo, éste tampoco es un patrón claro entre las especies de plantas testeadas, por lo tanto, dependería de la planta, con la cual se trabaje.

Los trabajos relacionados con respecto al efecto fitogulador de los taninos, modificados o no modificados, sobre el crecimiento de las plantas son en general escasos, sin embargo, se sugiere que al derivatizarse con aminación ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ), las propiedades de los taninos podrían cambiar, tales como la interacción con proteínas y alcaloides, lo que también modificaría la toxicidad de los taninos

(Braghitori et al., 2013). Este proceso de aminación, se considera además un mecanismo adicional de entrega de nitrógeno para la planta, lo que podría ayudar también en la promoción del crecimiento de ésta (Hashida et al., 2009). Los resultados obtenidos aquí concuerdan en cierta forma con los mostrados en otros estudios previos por García y colaboradores (2017), donde se mostró que ambos tipos de taninos (modificado con anhídrido maleico y no modificados) afectaron negativamente en forma moderada el porcentaje de germinación, y negativamente la elongación de la radícula. En general, se puede sugerir que los taninos, independiente de la aminación, tienden a tener una ligera toxicidad sobre las plantas. Resultados similares fueron encontrados por Prince y colaboradores (2019), quienes evaluaron a qué dosis el ácido tánico podría ser utilizado como un insecticida natural contra áfidos, sin impactar negativamente el crecimiento de la planta *Arabidopsis thaliana*. Se encontró que el ácido tánico (independiente de la concentración) no fue un efectivo insecticida contra los áfidos, y que además tenía efectos negativos sobre el crecimiento de *A. thaliana*, por lo que podría ser incluso considerado como un potencial herbicida. Estas observaciones de los efectos negativos de los taninos sobre el crecimiento de las plantas, han sido también validadas en condiciones *in vitro* con la microalga de agua dulce *Phaeodactylum tricornutum* Libralato (2011), cuya densidad celular se vió negativamente afectada a concentraciones altas de tanino. De acuerdo a los resultados encontrados en este trabajo, en conjunto con los escasos trabajos previos existentes en el tema, se puede sugerir que los taninos, independiente de su aminación, no cumplen un rol importante en plantas, promoviendo su crecimiento. Esto último concuerda con el rol alelopático descrito normalmente para los taninos (Chaudhuri y Ray, 2016;

Savelkoul et al., 1992; Ives, 2003), lo cual significa que la liberación de estos compuestos hacia el ambiente podrían inhibir el crecimiento de las plantas, así como también otros procesos fisiológico, tales como la fotosíntesis y respiración (Kraus et al., 2003) El efecto alelopático por parte de los taninos ocurriría mediante la inhibición de importantes enzimas de las plantas, lo cual se asociaría con una inhibición de la germinación y el crecimiento (Yasser et al., 2015). Esto se produciría a través del grupo hidroxilo, ya que, al tener estos grupos funcionales, la molécula es más ácida, por lo tanto, más tóxica (Fritz et al., 2007).

En conclusión, se conoce que los taninos cumplen un rol importante como potenciales insecticidas naturales; sin embargo, dado que también tendrían un efecto tóxico sobre el crecimiento de las plantas, aún no se pueden sugerir su uso expansivo en cultivos de planta. Este trabajo muestra que la aminación de los taninos podría reducir su toxicidad sobre las plantas; sin embargo, los resultados no son consistentes entre las cuatro especies de las plantas testeadas, sugiriéndose la realización de estudios complementarios a futuro que validen esto.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- Adlercreutz. H.; Mazur W. (1997). Phyto-estrogens and western diseases, *Ann. Med*, **29**, 95–120.
- Andersen Q.; Markham K.R. (2006). Flavanoids: Chemistry. *Biochemistry and Applications*, Taylor & Francis.
- Asquith N.; Butler L. (1986). Interactions of condensed tannins with selected proteins. *Phytochemistry*, **25** (7), 1591-1593.
- Beecher G. (2003). Overview of dietary flavonoids: Nomenclature, occurrence and intake. *Journal of Nutrition*, **133**, 3248 s- 3254 s.
- Braghilori, F.L.; Fierro, V.; Izquierdo, M.T.; parmentier, J.; pizzi, A.; Celzard, A. (2014). Kinetics of the hydrothermal treatment of tannin for producing carbonaceous microspheres. *Bioresource Technol.* **151**, 271–277.
- Braghilori F.; Fierro V.; Pizzi A. (2013). Reaction of condensed tannins with ammonia. *Industrial crops and products*, **44**, 330-335.
- Cano E.; cano T.; Quezada O; Quiñonez B.; Saravia J. (2002). Extracción y caracterización de taninos en corteza de tres especies forestales cultivadas en Guatemala, Pino ocote (*Pinus occarpa* Schiede), Encino negro (*Quercus brachystachys* Benth) y Aliso común (*Alnus jorulensis* HBK). *Una alternativa de desarrollo agroindustrial para el uso de taninos naturales. Guatemala: Carolina Academia Coact.*
- Chaudhuris A.; Ray S. (2016). Allelopathic potential of tannic acid and its equivalent phenolics extracted from aerial parts of *ampelocissus latifolia* (roxb) planch. *Journal of Agriculture and Veterinary science.* **9**, 90-100.

- Díaz C.; Pica Y. (2004). Ensayos con *lactuca sativa* ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de agua. *Facultad de Ciencias de Física y Matemática*, México, 72 -80.
- Dixon R.A. (1999). Isoflavonoids: biochemistry, molecular biology and biological functions, in *Comprehensive Natural Products Chemistry (Sankawa, U., ed.)*. **1**, 773–823.
- Environmental Protection Agency (USEPA). (1996). Protocols for short term toxicity screening of hazardous waste sites. US EPA 600/3-88/029, Corvallis
- Fengel D.; Wegener G. (1989). Wood, chemistry ultrastructure reactions. *Walter de Gruyter Ed. Nueva York*, 90-115.
- Freeland W. J.; Calcott P. H.; Anderson L. R. (1985). Tannins and saponin: interaction in herbivore diets. *Biochemical Systematics and Ecology*, **13** (2), 189-193.
- Fuller-Thomson E. G. (2019). Tannins as a Pesticide. *The iScientist*. **4** (1), 26-35.
- Fritz D.; Bernardi A.P.; Haas, A.; Bording S.A. (2007). Germination and growth inhibitory effect of hypericum mayrianthum and H polyanthemun extra con Lactuca sativa L rev bras. Farmacogn, **17**, 44-48.
- Garcia, D. E.; Glasserc W.G.; Pizzi, A.; paczkowski, S. P.; laborie, M. P. (2016). Modification of condensed tannins: from polyphenol chemistry to materials engineering. *New Journal of Chemistry*. **40**, 36-49.
- García, D. E.; Medina, P. A.; Zúñiga, V. I. (2017). Toxicological features of maleilated polyflavonoids from *Pinus radiata* (D. Don.) as potential

functional additives for biomaterials design. *Food and Chemical Toxicology*. **109**, 1069-1078.

- García D.E. (2014). Modificación química de polifenoles de Pino Pinaster tesis de doctorado, Alemania, 120.
- Glasser W. (2015). Modification of condensed tannins: from polyphenol chemistry to materials engineering, *Royal society of chemistry*, Francia, 36-49.
- González A. M.; Presa M. F.; Lurá M. C. (2003). *Ensayo de Toxicidad a Artemia. Fabicib*. **7**, 117-122.
- Hanson J. (2007). Manual para el manejo de semillas en banco de germoplasma. *Bioversity International*. **8**, 67-68.
- Hassanpour S.; Maherisis N., Eshratkhah B. (2011). Plants and secondary metabolites (Tannins). *International Journal*, **1**, 47-53.
- Hashida K.; Makino R.; Ohara S. (2009). Amination of pyrogallol nucleus of condensed tannins and related polyphenols by ammonia water treatment. *Holzforschung*. **63**, 319–326.
- Ives J. (2003). Identificación de posibles interacciones alelopáticas de diferentes especies vegetales sobre el cultivo del arroz (*Oryza sativa*). [Tesis de Diploma]. UNAH. 76-90.
- Infoagrónomo. (2018). Germinación y emergencia en monocotiledóneas y dicotiledóneas, recuperado el 17 de octubre de <http://www.facebook.com/infragrónomo/photos/a.10723027762>.

- Khatun M.; Talukder D.; Hye A. (2011). Insecticidal activity of Acacia catechu bark extract against four stored product pests. *Int J Sustain Crop Prod.* **6** (1), 1-5.
- Kraus T. E. C.; Yu Z.; Preston C M.; Dahlgren R A.; Zagorsky R.J.Z. (2003) Linking chemical reactivity and protein precipitation to structural-to-structural characteristics of foliar tannins. *J. Chem Ecol*, **29**,703–730.
- Libralato G. (2011). Linning and tannin toxicity to phaeodactylum tricornutum (Boglin). *Journal of Hazardous Material*, **194**, 435-439.
- Min B.R.; Hart S. P. (2003). Tannins for suppression of internal parasites. *J. Anim. Sci.* (E. Suppl. 2). **81**,102.
- Mann J. (1994). Natural products Their chemistry and biological significance. *Longman Scientific y Technical*, **8**, 361–388.
- Okuda, T.; Yoshida T.; Hatano T. (1995). Hydrolyzable tannins and related polyphenols. *In Fortschritte der Chemie Organische*, **66**, 1-117.
- Pásztor Z.; Mohácsiné I. R.; Gorbacheva, G.; Börcsök Z. (2016). The utilization of tree bark. *BioResources*. **11** (3), 7859-7888.
- Price D.; Pirbay S.; Weiland L.; Zhu J.; Fuller-Thomson E. (2019). Tannins as a pesticide. *The impact of tannic acid on the growth rates of Myzus persicae and Arabidopsis thaliana*. **4**, 2-11.
- Rosales-Castro M.R.F.; González-Laredo N.E.; Rocha-Guzmán J.A.; Gallegos-Infante J.; Peralta-Cruz.; Karchesy J.J. (2009). Evaluación química y capacidad antioxidante de extractos polifenólicos de cortezas de Pinus

cooperi, P. engelmannii, P. leiophylla y P. teocote". *Madera y Bosques*. **15** (3), 87-105.

- Rosales M.; Galindo A.; González R.F. (2002). "Taninos condensados en la corteza de Pinus chihuahuana y Pinus durangensis". *Información Tecnológica*. **13** (1), 39-42
- Savelkoul F.H.M.G.; Van Der Poel, A.F.B.; Tamminga, S. (1992) The presence and inactivation of trypsin inhibitors, tannins, lectins and amylase inhibitors in legume seeds during germination. *A review. Plant Food Hum Nutr.* **42**, 71–85.
- Schofield P., Mbugua D. M., Pell A. N. (2001). Analysis of condensed tannins: a review. *Animal feed science and technology*. **91** (1-2), 21-40.
- Siddiqui B.S.; Farhara A.; Shaheen F.; Naqui S.N.; Tariq M.R. 2002. Two new taitrapezoids from Azadirachta indica and their Insecticidal Activity. *J. National Prod.* **65** (8), 1216-1218.
- Steindor K.; Palowski B.; Góras, P.; Nadgórska-Socha A. (2011). Assessment of bark reaction of select tree species as an indicator of acid gaseous pollution. *Polish Journal of Environmental Studies*. **20**, 619-622.
- Torres M.; Rodríguez T. (2003). Empleo de los ensayos con plantas en el control de contaminantes tóxicos ambientales. *Cubanas de Higiene y Epidemiología*. **41**, 1561-3003.
- Vidaurre S. (1986). Algunos alcances sobre posible aprovechamiento industrial de raíces y tocones en Chile. *Renares*, **8**, 22-24.

- Yasser A.; Mohammed A.; Salwan H. (2015), phytotoxic extracts from Asteraceae on germination and growth of *echinocloa crus- galli*. Botany Department, Faculty of Science, Mansoura university, Egypt, **5**, 4925-4931.
- Zaidi M.A.; Huda A.; Crow S.A. (2006). Pharmacological Screening of *Arceuthobium oxycedri* (Dwarf mistletoe) of Juniper Forest of Pakistan. *J. Biol. Sci.* **6**, 56-59.
- Zhao R.; Coles N.; Kong, Z.; Wu, J. (2015). Effects of aged and fresh biochars on soil acidity under different incubation conditions. *Soil and Tillage Research.***146**, 133-138.

## 8. ANEXO

### 8.1 Anexo:

Tabla 1: Anova y Kruskal-Wallis, que muestran los efectos de la concentración de los taninos condensado y condensado modificado de Mimosa sobre el porcentaje de germinación (%), la longitud de radícula (mm) y la longitud del coleóptilo (mm) de *Avena sativa*. F corresponde a los grados de libertad calculados a través de un test de Dunnet (Anova de una vía) y H corresponde a Kruskal-Wallis (test no paramétrico). Asteriscos significativos indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \*  $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$  y NS corresponde a que no hubo diferencias significativas.

	Tanino condensado no modificado	Tanino condensado modificado
Germinación (%)	F=3,22 <sub>5,12</sub> (***)	F=3,56 <sub>5,12</sub> (*)
Radícula	F=1,99 <sub>5,159</sub> (NS)	H=18,02 (***)
Coleóptilo	F=3,50 <sub>5,55</sub> (***)	H=19,87 (**)

Tabla 2: Anova y Kruskal-Wallis, que muestran los efectos de la concentración de los taninos condensado y condensado modificado de Quebracho sobre el porcentaje de germinación (%), la longitud de radícula (mm) y la longitud del coleóptilo (mm) de *Avena sativa*. F corresponde a los grados de libertad calculados a través de un test de Dunnet (Anova de una vía) y H corresponde a Kruskal-Wallis (test no paramétrico). Asteriscos significativos indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \* p <0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\* p < 0,001 y NS corresponde a que no hubo diferencias significativas

	Tanino condensado no modificado	Tanino condensado modificado
Germinación (%)	F=3,16 5,12 (*)	F=1,20 5,12 (NS)
Radícula	H=13,01 (NS)	H=2,6541 (NS)
Coleóptilo	F=7,5035 5,97 (***)	F=7,74 5,97 (***)

Tabla 3: Anova y Kruskal-Wallis, que muestran los efectos de la concentración de los taninos condensado y condensado modificado de Pino radiata 1 sobre el porcentaje de germinación (%), la longitud de radícula (mm) y la longitud del coleóptilo (mm) de *Avena Sativa*. F corresponde a los grados de libertad calculados a través de un test de Dunnet (Anova de una vía) y H corresponde a Kruskal-Wallis (test no paramétrico). Asteriscos significativos indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \* p <0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\* p < 0,001 y NS corresponde a que no hubo diferencias significativas.

	Tanino condensado no modificado	Tanino condensado modificado
Germinación (%)	F=1,54 <sub>5,12</sub> (NS)	F=1,73 <sub>5,12</sub> (***)
Radícula	F=2,31 <sub>5,151</sub> (*)	F=3,04 <sub>5,152</sub> (***)
Coleóptilo	H=23,73 (***)	H=16,09 (***)

Tabla 4: Anova y Kruskal-Wallis, que muestran los efectos de la concentración de los taninos condensado y condensado modificado de Pino radiata 2 sobre el porcentaje de germinación (%), la longitud de radícula (mm) y la longitud del coleóptilo (mm) de *Avena sativa*. F corresponde a los grados de libertad calculados a través de un test de Dunnet (Anova de una vía) y H corresponde a Kruskal –Wallis (test no paramétrico). Asteriscos significativos indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \* p <0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\* p < 0,001 y NS corresponde a que no hubo diferencias significativas.

	Tanino condensado no modificado	Tanino condensado modificado
Germinación (%)	F=5,36 <sub>5,12</sub> (***)	F=4,967 <sub>5,12</sub> (**)
Radícula	F=1,56 <sub>5,152</sub> (NS)	F=12,28 <sub>5,152</sub> (***)
Coleóptilo	F=1,91 <sub>5,58</sub> (NS)	F=2,97 <sub>5,109</sub> (**)

Tabla 5: Anova y Kruskal-Wallis, que muestran los efectos de la concentración de los taninos condensado y condensado modificado de Mimosa sobre el porcentaje de germinación (%), la longitud de radícula (mm) y la longitud del hipocótilo (mm)

de *Triticum aestivum*. F corresponde a los grados de libertad calculados a través de un test de Dunnet (Anova de una vía) y H corresponde a Kruskal-Wallis (test no paramétrico). Asteriscos significativos indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \* p <0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\* p < 0,001 y NS corresponde a que no hubo diferencias significativas.

	Tanino condensado no modificado	Tanino condensado modificado
Germinación (%)	F=2,03 <sub>5,12</sub> (NS)	F=0,60 <sub>5,12</sub> (NS)
Radícula	F=5,55 <sub>5,153</sub> (***)	F=5,06 <sub>5,171</sub> (***)
Coleótilo	F=4,05 <sub>5,124</sub> (***)	F=3,98 <sub>1,153</sub> (***)

Tabla 6: Anova y Kruskal-Wallis, que muestran los efectos de la concentración de los taninos condensado y condensado modificado de Quebracho sobre el porcentaje de germinación (%), la longitud de radícula (mm) y la longitud del hipocótilo (mm) de *Triticum aestivum*. F corresponde a los grados de libertad calculados a través de un test de Dunnet (Anova de una vía) y H corresponde a Kruskal-Wallis (test no paramétrico). Asteriscos significativos indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \* p <0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\* p < 0,001 y NS corresponde a que no hubo diferencias significativas.

	Tanino condensado no modificado	Tanino condensado modificado
Germinación (%)	F=0,67 <sub>5,12</sub> (NS)	F=0,969 <sub>5,12</sub> (NS)
Radícula	H=26,95 (***)	F=4,72 <sub>5,157</sub> (***)
Coleóptilo	F=0,81 <sub>5,151</sub> (NS)	H=31,75 (***)

Tabla 7: Anova y Kruskal-Wallis, que muestran los efectos de la concentración de los taninos condensado y condensado modificado de Pino radiata 1 sobre el porcentaje de germinación (%), la longitud de radícula (mm) y la longitud del hipocótilo (mm) de *Triticum aestivum*. F corresponde a los grados de libertad calculados a través de un test de Dunnet (Anova de una vía) y H corresponde a Kruskal-Wallis (test no paramétrico). Asteriscos significativos indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \* p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\* p < 0,001 y NS corresponde a que no hubo diferencias significativas.

	Tanino condensado no modificado	Tanino condensado modificado
Germinación (%)	F=15,22 <sub>5,12</sub> (***)	F=1,78 <sub>5,12</sub> (NS)
Radícula	F=1,31 <sub>5,133</sub> (NS)	F= 7,30 <sub>5,157</sub> (***)
Coleóptilo	H=20,61 (***)	F=9,83 <sub>5,140</sub> (***)

Tabla 8: Anova y Kruskal-Wallis, que muestran los efectos de la concentración de los taninos condensado y condensado modificado de Pino radiata 2 sobre el porcentaje de germinación (%), la longitud de radícula (mm) y la longitud del

hipocótilo (mm) de *Triticum aestivum*. F corresponde a los grados de libertad calculados a través de un test de Dunnet (Anova de una vía) y H corresponde a Kruskal-Wallis (test no paramétrico). Asteriscos significativos indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \* p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\* p < 0,001 y NS corresponde a que no hubo diferencias significativas.

	Tanino condensado no modificado	Tanino condensado modificado
Germinación (%)	F=5,25 <sub>5,12</sub> (***)	F= 2,59 <sub>5,12</sub> (NS)
Radícula	H=46,52 (***)	F=10,87 <sub>5,165</sub> (***)
Hipocótilo	H=47,26 (***)	H=15,10 (***)

Tabla 9: Anova y Kruskal-Wallis, que muestran los efectos de la concentración de los taninos condensado y condensado modificado de Mimosa sobre el porcentaje de germinación (%), la longitud de radícula (mm) y la longitud del hipocótilo (mm) de *Trifolium sativa*. F corresponde a los grados de libertad calculados a través de un test de Dunnet (Anova de una vía) y H corresponde a Kruskal-Wallis (test no paramétrico). Asteriscos significativos indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \* p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\* p < 0,001 y NS corresponde a que no hubo diferencias significativas.

	Tanino condensado no modificado	Tanino condensado modificado
Germinación (%)	F=1,04 <sub>5,12</sub> (NS)	F= 0,99 <sub>5,12</sub> (NS)
Radícula	H=16,45 (***)	F=8,354 <sub>5,153</sub> (***)
Hipocótilo	F=9,29 <sub>5,142</sub> (***)	H=65,86 (***)

Tabla 10: Anova y Kruskal-Wallis, que muestran los efectos de la concentración de los taninos condensado y condensado modificado de Quebracho sobre el porcentaje de germinación (%), la longitud de radícula (mm) y la longitud del hipocótilo (mm) de *Trifolium sativa*. F corresponde a los grados de libertad calculados a través de un test de Dunnet (Anova de una vía) y H corresponde a Kruskal –Wallis (test no paramétrico). Asteriscos significativos indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \* p <0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\* p < 0,001 y NS corresponde a que no hubo diferencias significativas.

	Tanino condensado no modificado	Tanino condensado modificado
Germinación (%)	F=1,33 <sub>5,12</sub> (NS)	F= 0,84 <sub>5,12</sub> (NS)
Radícula	H=12,52 (NS)	H=16,85 (***)
Hipocótilo	H=3,78 (***)	H=13,12 (*)

Tabla 11: Anova y Kruskal-Wallis, que muestran los efectos de la concentración de los taninos condensado y condensado modificado de Pino radiata 1 sobre el porcentaje de germinación (%), la longitud de radícula (mm) y la longitud del

hipocótilo (mm) de *Trifolium sativa*. F corresponde a los grados de libertad calculados a través de un test de Dunnet (Anova de una vía) y H corresponde a Kruskal –Wallis (test no paramétrico). Asteriscos significativos indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \* p <0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\* p < 0,001 y NS corresponde a que no hubo diferencias significativas.

	Tanino condensado no modificado	Tanino condensado modificado
Germinación (%)	F=1,36 <sub>5,12</sub> (NS)	F= 3,33 <sub>5,12</sub> (*)
Radícula	F=2,83 <sub>5,142</sub> (**)	H=36,21 (***)
Hipocótilo	H=34,35 (***)	F=3,6507 <sub>5,142</sub> (**)

Tabla 12: Anova y Kruskal-Wallis, que muestran los efectos de la concentración de los taninos condensado y condensado modificado de Pino radiata 2 sobre el porcentaje de germinación (%), la longitud de radícula (mm) y la longitud del hipocótilo (mm) de *Trifolium sativa*. F corresponde a los grados de libertad calculados a través de un test de Dunnet (Anova de una vía) y H corresponde a Kruskal-Wallis (test no paramétrico). Asteriscos significativos indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \* p <0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\* p < 0,001 y NS corresponde a que no hubo diferencias significativas.

	Tanino condensado no modificado	Tanino condensado modificado
Germinación (%)	F=1,36 <sub>5,12</sub> (NS)	F= 3,33 <sub>5,12</sub> (*)
Radícula	H=6,45 (NS)	H=49,29 (***)
Hipocótilo	F=0,54 <sub>5,142</sub> (NS)	H=10,64 <sub>5,147</sub> (***)

Tabla 13: Anovay Kruskal-Wallis, que muestran los efectos de la concentración de los taninos condensado y condensado modificado Mimosa sobre el porcentaje de germinación (%), la longitud de radícula (mm) y la longitud del hipocótilo (mm) de *Lactuca sativa*. F corresponde a los grados de libertad calculados a través de un test de Dunnet (Anova de una vía) y H corresponde a Kruskal-Wallis (test no paramétrico). Asteriscos significativos indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \* p <0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\* p < 0,001 y NS corresponde a que no hubo diferencias significativas.

	Tanino condensado no modificado	Tanino condensado modificado
Germinación (%)	F=0,66 <sub>5,12</sub> (NS)	F= 1,94 <sub>5,12</sub> (NS)
Radícula	H=30,43 (***)	H=28,85 (***)
Hipocótilo	H=26,30 (***)	H=25,98 (***)

Tabla 14: Anova y Kruskal-Wallis, que muestran los efectos de la concentración de los taninos condensado y condensado modificado de Quebracho sobre el porcentaje de germinación (%), la longitud de radícula (mm) y la longitud del

hipocótilo (mm) de *Lactuca sativa*. F corresponde a los grados de libertad calculados a través de un test de Dunnet (Anova de una vía) y H corresponde a Kruskal –Wallis (test no paramétrico). Asteriscos significativos indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \* p <0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\* p < 0,001 y NS corresponde a que no hubo diferencias significativas.

	Tanino condensado no modificado	Tanino condensado modificado
Germinación (%)	F=2,12 <sub>5,12</sub> (NS)	F= 1,61 <sub>5,12</sub> (NS)
Radícula	H=16,06 (***)	H=15,34 (***)
Hipocótilo	F=3,85 <sub>5,165</sub> (***)	H=23,22 (***)

Tabla 15: Anova y Kruskal-Wallis, que muestran los efectos de la concentración de los taninos condensado y condensado modificado de Pino radiata 1 sobre el porcentaje de germinación (%), la longitud de radícula (mm) y la longitud del hipocótilo (mm) de *Lactuca sativa*. F corresponde a los grados de libertad calculados a través de un test de Dunnet (Anova de una vía) y H corresponde a Kruskal-Wallis (test no paramétrico). Asteriscos significativos indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \* p <0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\* p < 0,001 y NS corresponde a que no hubo diferencias significativas.

	Tanino condensado no modificado	Tanino condensado modificado
Germinación (%)	F=1,82 <sub>5,12</sub> (NS)	F= 3,62 <sub>5,12</sub> (*)
Radícula	H=1,31 <sub>5,164</sub> (NS)	H=14,40 (**)
Hipocótilo	F=2,88 <sub>5,164</sub> (**)	H=16,15 (***)

Tabla 16: Anova y Kruskal-Wallis, que muestran los efectos de la concentración de los taninos condensado y condensado modificado de Pino radiata 2 sobre el porcentaje de germinación (%), la longitud de radícula (mm) y la longitud del hipocótilo (mm) de *Lactuca sativa*. F corresponde a los grados de libertad calculados a través de un test de Dunnet (Anova de una vía) y H corresponde a Kruskal-Wallis (test no paramétrico). Asteriscos significativos indican diferencias significativas de este tratamiento con respecto al control \* p <0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\* p < 0,001 y NS corresponde a que no hubo diferencias significativas.

	Tanino condensado no modificado	Tanino condensado modificado
Germinación (%)	F=3,74 <sub>5,12</sub> (*)	F= 0,97 <sub>5,12</sub> (NS)
Radícula	F=1,30 <sub>5,151</sub> (NS)	F=1,28 <sub>5,151</sub> (NS)
Hipocótilo	H=15,42 (**)	H=3,16 (***)