

UCH-FC  
B-Ambiental  
R. 178  
C. 1



FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE PREGRADO  
UNIVERSIDAD DE CHILE

**“PROPAGACIÓN DEL COMPLEJO *Alstroemeria ligtu*  
(ALSTROEMERIACEAE) MEDIANTE SEMILLAS”**

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Biólogo Ambiental.

**MARÍA EUGENIA RAMÍREZ ARRIAGADA**

Director de Seminario de Título: Dra. Alejandra González V.  
Co-Director de Seminario de Título: Dr. Ángel Cabello L.

Diciembre, 2011  
Santiago, Chile





## INFORME DE APROBACION SEMINARIO DE TITULO

Se informa a la Escuela de Pregrado de la Facultad de Ciencias, de la Universidad de Chile que el Seminario de Título, presentado por la candidata

**MARIA EUGENIA RAMIREZ ARRIAGADA**

### **“PROPAGACION DEL COMPLEJO *Alstroemeria ligtu* (ALSTROEMERIACEAE) MEDIANTE SEMILLAS”**

Ha sido aprobado por la Comisión de Evaluación, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Biólogo con mención en Medio Ambiente

*Dra. Alejandra González V.*  
**Director Seminario de Título**

**Comisión de Evaluación**

Dr. Ramiro Bustamante  
**Presidente Comisión**

Dra. Carezza Botto  
**Evaluadora**

*Dr. ANGE CABENO*  
*CO-DIRECTOR SEMINARIO TITULO*  
Santiago de Chile, Diciembre de 2011

*Dedicada a todos mis seres amados*

## AGRADECIMIENTOS

Deseo agradecer profundamente a mis padres, Raúl y Eugenia, por su amor sus sacrificios y amor incondicional, sin ustedes no habría logrado mis sueños. Gracias por confiar en mis capacidades. Los amo.

A mis hermanos, María Antonieta y Juan Pablo, por quererme, aconsejarme y apoyarme en este arduo camino. Los amo.

A mis tíos, María Gabriela y Fernando, por su cariño y por convertirse en mis segundos padres. Los quiero mucho.

A Ariel, por su apoyo, su amor, su comprensión y por caminar junto a mí, gracias por estar siempre ahí. Te amo.

A mis grandes amigos de la Universidad, Andrea, Fabiola, Patricia, Pablo y Néstor, por compartir todos estos años nuestras penas y alegrías.

A mis amigas del INTA, Pamela, María José y Julia, por todas las risas compartidas y los gratos momentos vividos. Las adoro.

Agradecer al Laboratorio de Ecología Evolutiva III por financiar mi tesis mediante los Proyectos CONICYT PBCT/PSD-66 y VID I 09/07-2.

Agradecer también el patrocinio del Jardín Botánico Chagual del Parque Metropolitano.

Agradecer a mi Director de tesis, Dra. Alejandra González por sus comentarios y su preocupación. Al Co-Director, Dr. Angel Cabello por su tiempo, dedicación y compartir sus conocimientos conmigo.

Finalmente, agradecer a todas aquellas personas que contribuyeron con un granito de arena para el desarrollo de este trabajo, Romina Reyes, Daniela Suazo, Maureen Murúa, Francisco Fonturbel, Susana Lorca, Marcela Espinoza, Dra. Carreza Botto y Dr. Walter Sierralta. Sinceramente muchas gracias a todos.

## INDICE

Índice de figuras .....	v
Índice de tablas.....	v
Resumen .....	vi
Abstract .....	viii
Introducción .....	1
Objetivos General .....	5
Objetivos Específicos.....	5
Materiales y Métodos.....	6
Organismo en estudio.....	6
Sitios de recolección de semillas .....	8
Efecto de los tratamientos pre-germinativos y temperaturas de cultivo sobre la germinación de las semillas .....	11
Variables respuestas estimadas y Análisis estadísticos .....	14
Resultados.....	16
Discusión.....	28
Referencias .....	34
Anexos .....	37
Anexo I .....	37
Anexo II .....	37

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1	Distribución geográfica del complejo <i>Alstroemeria ligtu</i> a lo largo de Chile central	4
Figura 2	Flores de las tres subespecies de <i>Alstroemeria ligtu</i>	8
Figura 3	Determinación contenido de humedad de las semillas	10
Figura 4	Estimación de la viabilidad de las semillas mediante corte transversal para observar el embrión	11
Figura 5	Estimación de la latencia de las semillas mediante estratificación	14
Figura 6	Curva teórica de germinación explicativa de variables respuestas estimadas	15
Figura 7	Porcentaje de germinación final de los distintos tratamientos pre-germinativos por localidad a 15°C	20
Figura 8	Porcentaje de germinación final de los distintos tratamientos pre-germinativos por localidad a 25°C	21

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Sitios de muestreo y recolección de las subespecies del complejo <i>Alstroemeria ligtu</i>	9
Tabla 2	Diseño experimental	13
Tabla 3	Caracterización de las semillas	18
Tabla 4	Efecto de la temperatura sobre la germinación de <i>A. ligtu simsii</i>	24
Tabla 5	Efecto de la temperatura sobre la germinación de <i>A. ligtu incamata</i>	25
Tabla 6	Efecto de la temperatura sobre la germinación de <i>A. ligtu ligtu</i>	26
Tabla 7	Condiciones que maximizarían la germinación a 15°C	27

## RESUMEN

Se estudió el complejo *Alstroemeria ligtu*, especie endémica de Chile, conformado por tres subespecies: *A. ligtu simsii*, *A. ligtu incarnata* y *A. ligtu ligtu*, las cuales presentan una distribución discontinua a lo largo de Chile central, con el fin de responder dos preguntas: (1) presentan las semillas algún tipo de latencia que diferencie sus patrones germinativos y (2) los requerimientos germinativos que maximizan la germinación de las semillas varían entre las subespecies.

El objetivo principal de este estudio fue propagar las tres subespecies de *A. ligtu*. Los objetivos específicos fueron obtener información de las características de las semillas, determinar el tipo de latencia que presentan y analizar las condiciones que maximizan la germinación.

Para caracterizar las semillas se determinó tamaño, peso, contenido de humedad y viabilidad. La latencia de las semillas se estudió mediante la aplicación de tratamientos pre-germinativos (estratificaciones cálida y fría). La maximización de la germinación se determinó empleando dos temperaturas de cultivo en las cuales se hizo germinar semillas tratadas y semillas testigo.

Las semillas muestran diferencias significativas entre las subespecies solamente en el peso. Respecto a la germinación, las temperaturas de cultivo muestran diferencias significativas en las respuestas germinativas de todas las subespecies. Las semillas cultivadas a 15°C germinan independientes al tratamiento pre-germinativo e incluso germinan aquellas semillas que no son tratadas, mientras que a 25°C germinan mayoritariamente cuando han sido sometidas a un tratamiento pre-germinativo (e.g. estratificación fría) que permite la ruptura de latencia presente en las semillas.

De acuerdo a nuestros resultados de caracterización de semillas, la ausencia de diferencias significativas en la mayoría de los caracteres analizados sugeriría que dichos caracteres estarían asociados a características propias de la especie más que a condiciones propias del lugar de origen. Mientras que para la germinación, tratamientos pre-germinativos, parecen ser necesarios para atenuar o eliminar posible latencia fisiológica presente en las semillas, la cual se ve acentuada a temperaturas más altas. Los resultados no son concluyentes respecto a una latencia morfológica. La maximización de la germinación parece ser independiente del tratamiento pre-germinativo y ocurre a una temperatura relativamente cálida (15°C).

El conocimiento adquirido en este estudio respecto a los requerimientos germinativos de las subespecies de *A. ligtu*, sirve de base para la comprensión básica del taxa, y podría ser utilizado en futuros estudios que involucren propagar las subespecies en su hábitat natural (programas de manejo), preservar la biodiversidad natural de las subespecies (banco de semillas) y pronosticar las consecuencias a nivel de semilla frente al cambio climático y/o pérdida de su hábitat respectivo.

**Palabras clave:** *Alstroemeria ligtu*, tratamientos pre-germinativos, germinación de semillas, latencia, temperaturas de cultivo.

## ABSTRACT

We studied the *Alstroemeria ligtu* complex, endemic to Chile, consisting of three subspecies: *A. ligtu simsii*, *A. ligtu incarnata* and *A. ligtu ligtu*, that show a discontinuous distribution along central Chile, to answer following hypotheses: (1) Do they present some kind of seed dormancy that differentiates germination patterns and (2) germination requirements that maximize seed germination vary among subspecies.

The main objective of this study was to propagate the three subspecies of *A. ligtu*. The specific objectives were to collect information on seed characteristics, to assess their type of dormancy and to define the conditions maximize germination.

The seeds were characterized by determination of size, weight, moisture content and viability. The seed dormancy was studied applying pre-germinative treatments (warm and cold stratification). The maximization of germination was determined using different culture temperatures for germination of treated and control seeds.

The seeds of the three subspecies only show significant differences in weight. Significant differences were seen at the level of the geminative response of all subspecies to culture temperatures. Thus, cultivated seeds at 15°C germinate independently of pre-germinative treatment and even germinate without treatment, while at 25°C the seeds germinate only after a previous treatment (i.g. cold stratification) allowing for seed dormancy rupture.

According to the results from seeds characterization, the absence of a significant difference in most analyzed items suggest that some of these would be related to characteristics of species rather than conditions of origin source. Regarding to germination, pre-germinative treatments to reduce or eliminate physiological dormancy present in seeds, accentuated at higher temperatures. Regarding to morphological

dormancy the results cannot conclude its presents. Maximization of germination seems to be independent of pre-germinative treatment and occurs at a relatively warm temperature (15°C).

The knowledge obtained from this study on the germinative requirements of *A.ligtu* subspecies provides a platform for the basic understanding of this taxa, and can be used in future studies involving propagation of these subspecies in their wild habitat (Management programs), preservation of their natural biodiversity (Bank seeds) and prognosis of the consequences of climate change and/or loss of habitat on the seeds.

**Keywords:** *Alstroemeria ligtu*, pre-germinative treatments, seed germination, dormancy, culture temperatures.

## INTRODUCCION

El género *Alstroemeria*, perteneciente a la familia Alstroemeriaceae, es exclusivamente Sudamericano (Baeza *et al.*, 2008), descrito por Linneo en 1762, comprende en total unas 73 especies (Muñoz, 2003). Se encuentra en países como Argentina, Bolivia, Perú, Paraguay y Venezuela (Bayer, 1987; Aker y Healy, 1990; De Jeu y Jacobsen, 1995; Sanso y Xifreda, 2001; Bridgen *et al.*, 2002; Muñoz, 2003; Muñoz y Moreira, 2003). Este género pertenece a la subdivisión de las angiospermas (plantas con flores). Se caracterizan por tener tallos rígidos y foliados, pudiendo llegar a medir unos 120 cm dependiendo de las condiciones ambientales en las que se encuentren. Las flores tienen forma de embudo compuesta de seis tépalos (tres externos y tres internos), seis estambres y un estilo filiforme, declinando con tres estigmas ramificados. En la mayoría de los casos, los tres tépalos internos presentan manchas o estrías irregulares de color negro o café conocidas como guías de néctar (Muñoz y Moreira, 2003; Botto-Mahan *et al.*, 2011). Las flores de este género destacan por su belleza y sus colores. Gracias a estos atributos, en general, ha adquirido un alto valor comercial y relevancia mundial como planta ornamental de cultivo y de corte (De Jeu y Jacobsen, 1995; Hutchinson *et al.*, 1997; Baeza *et al.*, 2006). Basado en lo anterior, su cultivo en invernaderos se ha transformado en una actividad frecuente en países como Holanda, Inglaterra, Japón y Norte América (Muñoz y Moreira, 2003), llegando a ocupar el noveno lugar de los cultivos florales en Holanda (Bouwen y Van Der Vlugt, 1996). La popularidad de los cultivos se atribuye a la capacidad de crecer en invernaderos a bajas temperaturas, al amplio rango de colores que poseen sus flores y la gran durabilidad post-cosecha (Baeza *et al.*, 2008). Todas estas características han permitido que las variedades florales de esta especie sean comercializadas tanto en

Chile como en el resto del mundo, desarrolladas mediante programas de mejoramiento genético o propagación vegetativa en países extranjeros, en invernaderos bajo condiciones de humedad, luminosidad y temperatura adecuadas, utilizando especies sudamericanas como material parental (Ruiz *et al.* 2010).

En Chile, el género comprende unas 33 especies que se encuentran distribuidas a lo largo de todo el territorio nacional, desde Iquique hasta la Patagonia (20° a 53° S) (Bayer, 1987; Muñoz, 2003; Muñoz y Moreira, 2003); siendo la zona central del país (28° a 37° S) el área donde es posible encontrar el mayor número de especies y endemismo (Muñoz y Moreira, 2003; Baeza *et al.*, 2006). Dada esta distribución, las especies de *Alstroemeria* que se encuentran en Chile central están fuertemente amenazadas por tres causas concretas: (1) transformación del hábitat, debido a cambios en el uso de suelo para cultivos productivos (e.g., viticultura, fruticultura, horticultura); (2) sobreexplotación de los ecosistemas con prácticas no sustentables (e.g., ganadería caprina); y (3) extracción directa de las flores con fines comerciales (flores, semillas y/o raíces) (Muñoz y Moreira, 2003). Esto se debe a que es en esta zona donde se encuentra la mayor densidad humana del país, disminuyendo las poblaciones naturales de esta especie, lo cual probablemente conllevaría a procesos de extinción local. Este escenario parece cobrar importancia cuando se describe el estado de conservación de las especies de *Alstroemeria* en Chile, encontrándose que un 28,3% está en peligro de extinción y un 37,7% está en la categoría vulnerable (Muñoz y Moreira, 2003).

Particularmente, *Alstroemeria ligtu* ("Lirio de los Incas", Bridgen *et al.*, 2002) es una especie herbácea endémica de Chile central que florece entre noviembre y febrero (Muñoz y Moreira, 2003). Está conformada por tres subespecies con distribución discontinua: *A. ligtu simsii* (V – VII región), *A. ligtu incamata* (VII región) y *A. ligtu ligtu*

(VII – VIII región) (Buitendijk *et al.*, 1997; Muñoz y Moreira, 2003; Zhou *et al.*, 2003) (Fig. 1). Las tres subespecies son extraídas directamente para su uso ornamental (Baeza *et al.*, 2006) y para hacer “chuño” con fines alimenticios y/o medicinales (Muñoz y Moreira, 2003). Estas diferencias geográficas en la distribución sugieren que las subespecies podrían presentar patrones germinativos distintos y, por otro lado, se mantendrían las barreras que impiden un adecuado flujo genético entre ellas manteniendo el estatus taxonómico de subespecie. Por otra parte, se limitaría la capacidad de ampliar o desplazar sus áreas de distribución y, en consecuencia, en un escenario de cambio climático y/o pérdida del hábitat natural por actividades antrópicas, facilitaría la extinción de las subespecies. Basado en lo anterior, emergen dos grandes preguntas respecto al complejo *A. ligtu*:

- 1) ¿Presentan las semillas de las distintas poblaciones algún tipo de latencia que diferencie sus patrones de germinación?
- 2) ¿Los requerimientos germinativos que maximizan la germinación de las semillas serán comunes para todas las subespecies?

Dado el escaso conocimiento que existe en el complejo *A. ligtu*, se hace indispensable encontrar mecanismos que faciliten y maximicen la propagación y conservación de las distintas subespecies. Es por esto que la información adquirida no sólo permitirá establecer si las subespecies presentan mecanismos específicos de latencia y condiciones de cultivo que maximicen la germinación, sino que permitirá generar el conocimiento biológico básico. Éste adquirirá importancia para propagar las subespecies en su hábitat natural (programas de manejo), preservar la biodiversidad

natural de las subespecies (banco de semillas) y prever las consecuencias a nivel de semilla frente al cambio climático y/o pérdida de su hábitat natural.

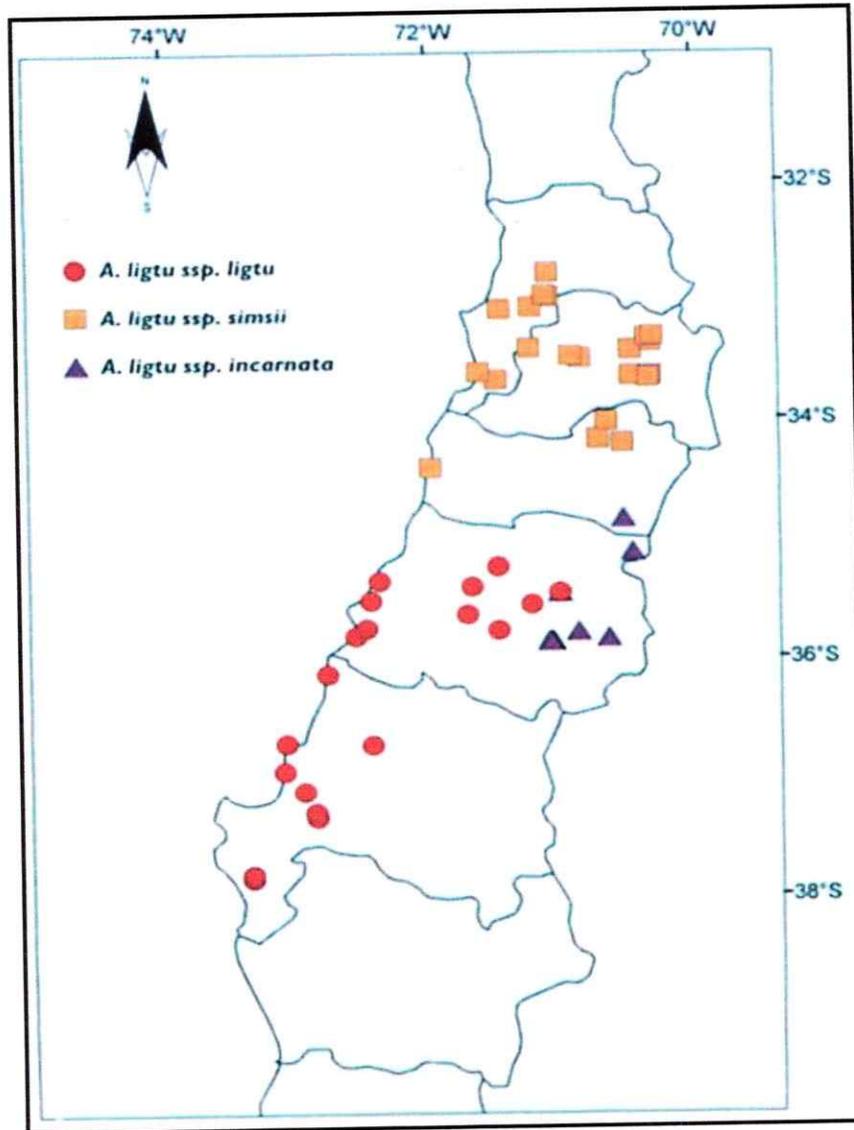


Fig. 1 Distribución geográfica del complejo *Alstroemeria ligtu* a lo largo de Chile Central (Muñoz y Moreira, 2003).

## OBJETIVOS

### *Objetivo General*

Caracterizar las condiciones abióticas para propagar las subespecies de *Alstroemeria ligtu* mediante semillas manipulando las variables tratamiento de semilla (pre-germinativo) y temperatura ambiental.

### *Objetivos Específicos*

- a) Caracterizar las semillas provenientes de las distintas subespecies de *A. ligtu*.
- b) Determinar y caracterizar el tipo y grado de latencia que puedan presentar las semillas de cada subespecies de *A. ligtu* a través de tratamientos pre-germinativos (estratificación).
- c) Comparar y determinar el tratamiento pre-germinativo y la temperatura de cultivo que maximicen la germinación de las semillas de las distintas subespecies de *A. ligtu*.



## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1) Organismo en estudio.

Las plantas de *Alstroemeria ligtu* poseen ciertas características fenotípicas y de hábitat que permiten la diferenciación entre las tres subespecies (Muñoz y Moreira, 2003):

a) *A. ligtu simsii* (Flor del gallo): Fenotípicamente la flor es de color rojo – anaranjado y el largo de sus líneas de néctar es relativamente más corto que el de las otras subespecies y, además, produce un mayor número de flores por planta (Fig. 2a, 2b). Habita en sectores de secano, donde el período sin precipitaciones dura de tres a cinco meses, pudiendo alargarse de seis a diez meses, concentrando las precipitaciones en invierno y alcanzando los 300 a 800 mm anuales. En cuanto a las condiciones de luz, pueden encontrarse a pleno sol sin ninguna protección en partes planas o laderas de exposición norte. Esta subespecie es resistente a las heladas ocasionales y no prolongadas de hasta -5°C aproximadamente. Esta subespecie tiene una distribución restringida que va desde Cerro Caquis (32° 45' S) en la Provincia de San Felipe, Valparaíso, hasta Pichilemu (34° 24' S) en la Región de O'Higgins, desde los 0 a los 1.800 msnm (Muñoz y Moreira, 2003) (Fig.1).

b) *A. ligtu incamata*: La flor es fenotípicamente de color rosado con líneas de néctar rojo oscuro, prácticamente café, rodeadas por un amarillo intenso y de un largo medio (Fig. 2c, 2d). Tiene un hábitat similar a la subespecie anterior, en donde las precipitaciones van desde los 400 a 800 mm anuales (concentradas en invierno). Es resistente a las bajas temperaturas (-8°C) y puede tolerar nevazones ocasionales y cobertura de nieve durante un par de semanas al año. Esta subespecie posee una

distribución que se considera estrecha, encontrándose desde Huertecillas en la Cordillera de Colchagua (34° 50' S) en la Región de O'Higgins, hasta la Reserva Nacional Bellotos del Melado (35° 50' S) en la Región del Maule, entre los 1.000 y 2.000 msnm (Muñoz y Moreira, 2003) (Fig.1).

c) *A. ligtu ligtu* (Liuto): Sus flores son fenotípicamente de un color rojo pálido, similar a *A. ligtu incarnata* cuyas líneas de néctar son las más largas de las tres subespecies (Fig. 2e, 2f). Puede encontrarse en áreas con constantes precipitaciones con cortos periodos de sequía (aproximadamente de un mes) o en áreas de secano como el de las otras subespecies. En cuanto a sus condiciones de luz, necesita protección contra el sol por vegetación poco espesa, rocas, etc., que logren filtrar el 20 – 40% de la luz o bien protegidas por una densa capa de vegetación, debajo de grandes árboles que filtran entre el 40 – 80% de luz; por ello, es fácil encontrarlas en laderas de exposición sur o en hondas quebradas. Es una especie que no resiste la nieve pero sí resiste heladas ocasionales de hasta -5°C (helada típica de la mañana). Esta subespecie se distribuye desde Camarico en la ribera norte del Río Claro (35° 14' S), Región del Maule, hasta Cañete (37° 50' S) en la Provincia de Arauco, Región del Bío – Bío, por la costa, en el interior y en la pre-cordillera hasta los 1.300 msnm (Muñoz y Moreira, 2003) (Fig.1).

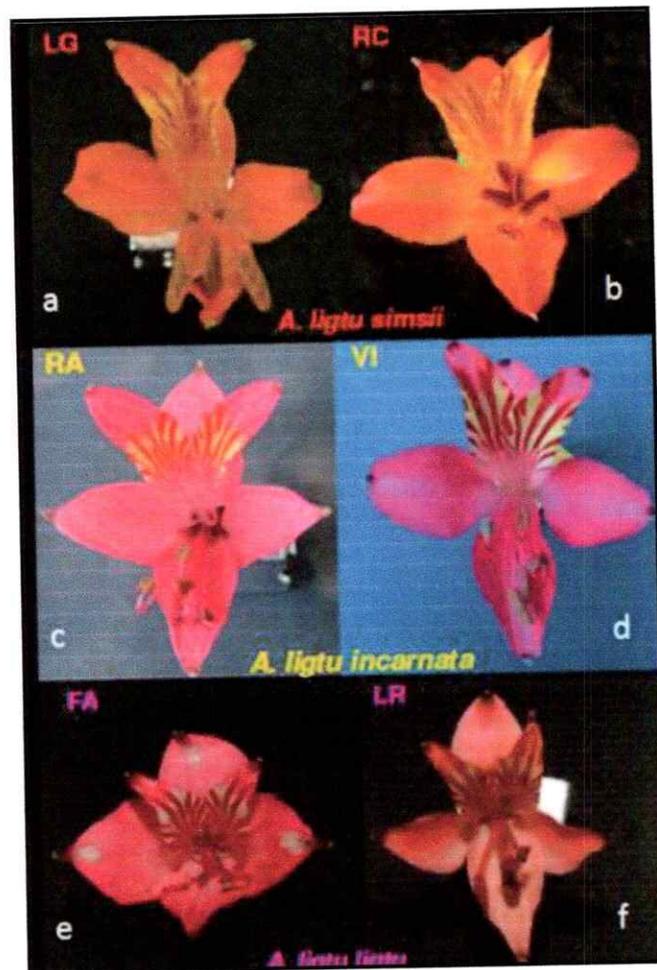


Fig. 2 Flores de *Alstroemeria* con guías de néctar oscuras en los dos pétalos interiores superiores a) *A. ligtu simsii* de Lagunillas, b) *A. ligtu simsii* de Río Clarillo, c) *A. ligtu incarnata* de Radal Siete Tazas, d) *A. ligtu incarnata* de Vilches, e) *A. ligtu ligtu* de RN Federico Albert, f) *A. ligtu ligtu* de RN Los Ruiles.

## 2) Sitios de recolección de semillas.

Las semillas fueron recolectadas durante el mes de febrero de 2010. La subespecie *A. ligtu simsii* fue recolectada en la Región Metropolitana, específicamente en los sectores de Lagunillas y Río Clarillo. Las semillas de *A. ligtu incarnata* se recolectaron en los sectores de Radal Siete Tazas y Vilches. Finalmente, las semillas de *A. ligtu ligtu* se recolectaron en las Reservas Nacionales Federico Albert y Los Ruiles (Tabla 1) y se almacenaron en bolsas de papel a temperatura ambiente.

Tabla 1. Sitios de muestreo y recolección de las subespecies de *Alstroemeria ligtu*

Subespecie	Población	Abreviación	Ubicación geográfica	Altura (msnm)
<i>A. ligtu simsii</i>	Lagunillas	LG	33°64'-70°33'	1197
<i>A. ligtu simsii</i>	RN. Rio Clarillo	RC	33°72'-70°47'	1153
<i>A. ligtu incamata</i>	RN. Radal Siete Tazas	RA	35°45'-71°04'	609
<i>A. ligtu incamata</i>	RN. Altos Lircay (Vilches)	VI	35°59'-71°09'	1103
<i>A. ligtu ligtu</i>	RN. F. Albert	FA	35°73'-72°53'	107
<i>A. ligtu ligtu</i>	RN. Los Ruiles	LR	35°87'-72°47'	410

### 3) Caracterización de las semillas.

a) Diámetro promedio de las semillas (N= 32 semillas por localidad): Se realizó para obtener el tamaño promedio comparable entre las localidades y así determinar diferencias y similitudes entre las subespecies. Los datos se analizaron estadísticamente mediante Análisis de Varianza (ANOVA) de una vía. Posteriormente se realizó un Test a posteriori (HSD Tukey-test) para determinar la diferencia entre las localidades. Los análisis estadísticos se realizaron en STATISTICA 7.0.

Además, basado en protocolo estándar del ISTA (International Seed Testing Association, 2003), la caracterización de las semillas contempló la estimación de:

b) Contenido de humedad (CH%) (N= dos repeticiones de 25 semillas; Fig. 2): Primero se determinó el peso húmedo (PH) (semillas remojadas por 24 hr en agua destilada y semillas testigo como control), luego se secaron las semillas en una estufa de aire forzado durante 17 hr a 105°C y se determinó el peso seco (PS) en una balanza de precisión de cuatro decimales. El CH% se calculó como promedio de las repeticiones

mediante la fórmula  $CH = PH - PS / PH * 100$ . Esto permite obtener información respecto a la permeabilidad de la testa y así poder descartar tratamientos pre-germinativos como el uso de  $H_2SO_4$ . Para evidenciar diferencias entre las subespecies y las poblaciones, los datos se analizaron estadísticamente mediante la prueba de G con corrección Bonferroni. Los análisis estadísticos se realizaron en STATISTICA 7.0.

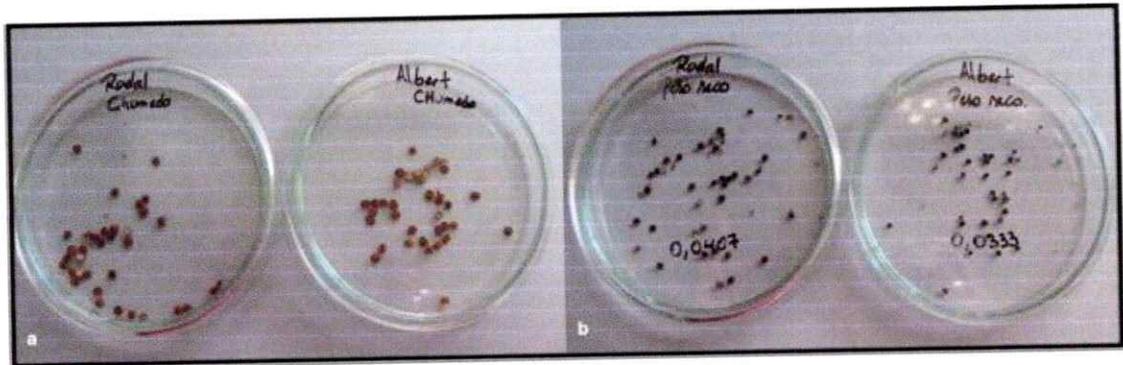


Fig. 3 Determinación contenido de humedad, calculado en base al peso de semillas remojadas por 24 hr en agua destilada (a) y peso de semillas testigo (b).

c) Peso de 100 semillas: Calculado como el peso promedio de cuatro repeticiones para obtener datos comparables y diferenciables entre las subespecies en las distintas poblaciones. Los datos se analizaron estadísticamente mediante ANOVA de una vía ya que los datos cumplían con los supuestos de homogeneidad de la varianza y normalidad; posteriormente se realizó un Test *a posteriori* (prueba HSD-Tukey) para determinar las diferencias entre las localidades. Los análisis estadísticos se realizaron en STATISTICA 7.0.

d) Número de semillas por kilogramo: Se calcula en base al peso promedio de 100 semillas. Dado que sólo se utiliza el peso promedio, los datos no fueron analizados estadísticamente.

e) Viabilidad del embrión (N=25 semillas; Fig. 3): Se realiza un corte transversal a las semillas de cada localidad y observación del embrión; estos resultados permiten obtener la probabilidad del número de semillas que debiese germinar bajo condiciones ideales para cada subespecie de acuerdo a la población estudiada.

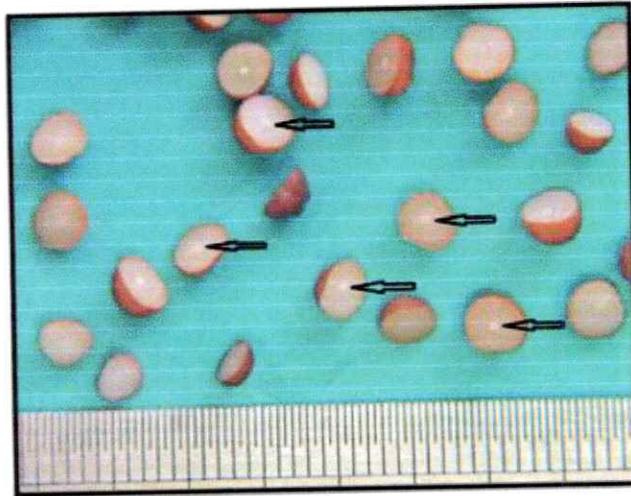


Fig. 4 Estimación de la viabilidad de semillas mediante la observación del embrión a través de cortes transversales. Las flechas indican ejemplos de embriones viables.

#### 4) Efecto de los tratamientos pre-germinativos y temperaturas de cultivo sobre la germinación de las semillas.

Las semillas de cada subespecie y de cada población fueron puestas a germinar bajo condiciones experimentales controladas, cuyas fuentes de variación fueron (Tabla 2):

a) Subespecies: Se utilizaron las tres subespecies anteriormente descritas para *Alstroemeria ligtu*.

b) Poblaciones: Se utilizaron seis poblaciones (2 por cada subespecie) inicialmente descritas en la Tabla 1.

c) Temperaturas de cultivo: Para determinar la temperatura adecuada que permita maximizar la germinación de las semillas de las distintas subespecies, se escogieron las temperaturas 15° y 25°C utilizadas como protocolo estándar para comparar con otros estudios.

d) Tratamiento pre-germinativo (estratificación): Para determinar el tipo de latencia que pudiesen presentar las semillas de las distintas subespecies se realizaron tres tratamientos pre-germinativos:

i) Estratificación cálida (15°C): Utilizada para romper latencia morfológica. Este tipo de latencia se presenta en semillas cuyos embriones no se han desarrollado por completo en la época de maduración y, como regla general, el crecimiento del embrión es favorecido por temperaturas cálidas. El ensayo consiste en colocar un set estratificado por 15 días y otro por 30 días en bolsas plásticas con arena húmeda (N=300 semillas distribuidas en dos grupos de tres repeticiones de 25 semillas para cada periodo por localidad) (Fig. 4).

ii) Estratificación fría (5°C): Utilizada para romper latencia fisiológica. Este tipo de latencia está relacionada a los procesos fisiológicos que bloquean el crecimiento del embrión, es decir, existe una disminución en la actividad del embrión por factores fisiológicos inhibitorios. El ensayo se realiza con un set estratificado por un periodo de 15 días y otro por 30 días (N= 300 semillas distribuidas en dos grupos de tres repeticiones de 25 semillas para cada periodo por localidad) (Fig. 4).

iii) Testigo: Como controles, se mantuvieron 150 semillas por localidad, sin manipulación y almacenadas en bolsas de papel a 4°C hasta el inicio del ensayo de germinación.

Tabla 2. Diseño experimental ejemplificado en una sola subespecie; se realizó lo mismo para el resto de las subespecies.

<i>Subespecie</i>	<i>Población</i>	<i>Temperatura de cultivo (°C)</i>	<i>Tratamiento pre-germinativo</i>
<i>Alstroemeria ligtu simsii</i>	Lagunillas (LG)	15	T0 <sup>1</sup> EC15 EC30 EF15 EF30
		25	T0 EC15 EC30 EF15 EF30
	Rio Clarillo (RC)	15	T0 EC15 EC30 EF15 EF30
		25	T0 EC15 EC30 EF15 EF30

<sup>1</sup> (T0) Testigo; (EC15) Estratificación cálida durante 15 días; (EC30) Estratificación cálida durante 30 días; (EF15) Estratificación fría durante 15 días; (EF30) Estratificación fría durante 30 días.



Fig. 5 Estimación de la latencia de semillas mediante estratificación por 15 días y 30 días.

Para cada tratamiento pre-germinativo se cultivaron tres placas petri con 25 semillas cada una a las distintas temperaturas de cultivo, obteniéndose un total de 180 placas (4.500 semillas). Las placas contenían papel filtro humedecido con agua destilada, el cual fue utilizado como sustrato. Los ensayos de germinación se realizaron en cámaras de cultivo independientes, en oscuridad y por un periodo total de 45 días, controlando la germinación diariamente. Cada dos días se controlaba la humedad del papel filtro. Se consideró como semilla germinada aquella cuya radícula midiera mínimo 2 mm.

##### **5) Variables respuestas estimadas y Análisis estadísticos.**

Como variables respuestas, para cada tratamiento se siguió el protocolo desarrollado por Cabello *et al.* (2001-2002), estimándose los siguientes índices:

a) Capacidad germinativa: Corresponde al porcentaje final de germinación (promedio de las repeticiones). La comparación entre las poblaciones se realizó mediante ANOVA de dos vías. Posteriormente se realizó una prueba HSD-Tukey para determinar las diferencias entre las variables. Los análisis estadísticos se realizaron en el Software InfoStat 9.

b) Valor máximo de Czabator (Velocidad de germinación): Corresponde al cociente máximo obtenido entre la germinación acumulada y el día de ensayo correspondiente a ese porcentaje. El valor se expresa en porcentaje/día y corresponde al promedio de las repeticiones. La comparación entre las poblaciones se realizó mediante ANOVA de dos vías seguido de una prueba HSD-Tukey. Los análisis estadísticos se realizaron en el Software InfoStat 9.

c) Energía germinativa: Es el promedio de los porcentajes de germinación acumulada correspondientes al día de ocurrencia del valor máximo.

d) Periodo de energía: Corresponde a los días transcurridos desde el inicio del ensayo hasta la ocurrencia del valor máximo, expresado como el promedio de las repeticiones.

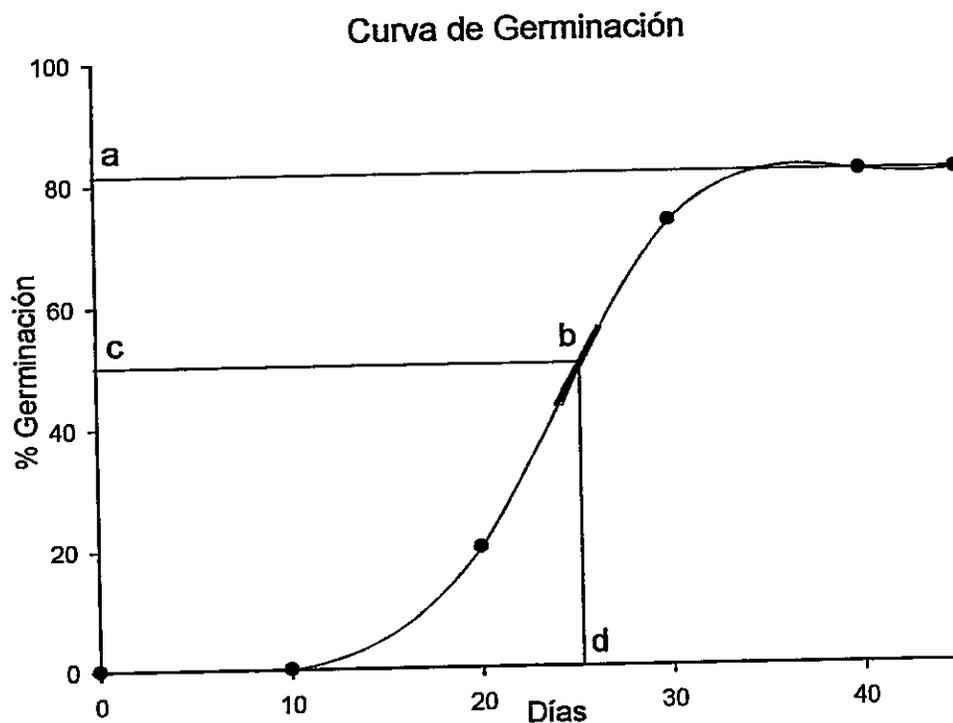


Fig. 6 Curva teórica de germinación. Cada letra representa gráficamente las variables respuestas estimadas.

## RESULTADOS

### 1) Caracterización de las semillas.

Los análisis de los lotes de semillas empleados para los ensayos de caracterización (Tabla 3), indican que:

- a) El diámetro de las semillas es parcialmente similar entre las subespecies ( $F_{5,186}=20,32$ ;  $p<0,05$ ). Sólo se observa que la subespecie *A. ligtu ligtu* mostró, en la población de RN Federico Albert, un diámetro promedio de semillas significativamente menor al resto de las localidades.
- b) En cuanto al contenido de humedad, ni las subespecies ni las poblaciones mostraron diferencias significativas estimadas en las semillas testigo ni en las semillas remojadas por 24 hr ( $G=0,179$ ;  $gl=5$ ;  $p=0,999$ ).
- c) El peso de las semillas varió entre las subespecies y, a su vez, entre las poblaciones estudiadas ( $F_{5,18}=12,1$ ;  $p<0,05$ ). De esta manera, la subespecie *A. ligtu simsii* de Río Clarillo fue la que presentó mayor peso (2,0719 g), mientras que la subespecie *A. ligtu ligtu* de RN Federico Albert fue la que presentó el menor peso (0,5761 g). En todos los casos no se observa un patrón claro que defina las subespecies o un gradiente latitudinal.
- d) El número de semillas por kilogramo varió entre las subespecies y también entre las poblaciones en estudio, lo que era de esperar considerando las diferencias en peso que presentaban. *A. ligtu simsii* presenta el menor número de semillas por kilogramo en la localidad de Río Clarillo (48.265 semillas/kg), mientras que *A. ligtu ligtu* en RN

Federico Albert presentó el mayor número de semillas por kilogramo (173.589 semillas/kg), lo cual es 3,5 veces más semillas que en Río Clarillo. Estos resultados se condicen con los obtenidos para el peso de las semillas, donde las de menor peso corresponden al mayor número de semillas/kg y viceversa, por lo tanto, tampoco se aprecia un patrón que defina a la subespecie o a un gradiente latitudinal.

e) En lo que respecta a la viabilidad del embrión, no existe una diferencia entre las subespecies y tampoco entre las localidades, pudiendo observarse que *A. ligtu simii* en Lagunillas presenta la menor viabilidad respecto al resto de las localidades, alcanzando el 96%, mientras que la máxima viabilidad se observó para la subespecie *A. ligtu incarnata* con un 99% en ambas localidades (RA y VI).

Tabla 3. Caracterización de las semillas a través de las variables diámetro, contenido de humedad, peso de semillas, número de semillas y viabilidad del embrión.

Subespecie	Población	Diámetro (cm)	Contenido de humedad (%)		Peso 100 semillas (g)	Número Semillas/kg	Viabilidad del embrión (%)
			Testigo	Remojo 24 hr			
<i>A. ligtu simsii</i>	LA	2,85 ± 0,29 <sup>a</sup>	15,56 <sup>a</sup>	48,81 <sup>a</sup>	1,9101 ± 0,2494 <sup>a</sup>	52.352	96,00
<i>A. ligtu simsii</i>	RC	2,72 ± 0,37 <sup>a</sup>	14,37 <sup>a</sup>	47,72 <sup>a</sup>	2,0719 ± 0,1019 <sup>a</sup>	48.265	97,00
<i>A. ligtu incarnata</i>	RA	2,72 ± 0,28 <sup>a</sup>	14,50 <sup>a</sup>	52,12 <sup>a</sup>	1,1727 ± 0,3062 <sup>bc</sup>	85.273	99,00
<i>A. ligtu incarnata</i>	VI	2,75 ± 0,20 <sup>a</sup>	14,72 <sup>a</sup>	47,12 <sup>a</sup>	1,4277 ± 0,4431 <sup>ab</sup>	70.039	99,00
<i>A. ligtu ligtu</i>	FA	2,21 ± 0,22 <sup>b</sup>	15,79 <sup>a</sup>	56,18 <sup>a</sup>	0,5761 ± 0,1343 <sup>c</sup>	173.589	98,00
<i>A. ligtu ligtu</i>	LR	2,78 ± 0,30 <sup>a</sup>	14,59 <sup>a</sup>	49,99 <sup>a</sup>	1,4281 ± 0,4347 <sup>ab</sup>	70.024	99,00

\* Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre localidades.

## 2) Efecto de los tratamientos pre-germinativos y temperaturas de cultivo sobre la germinación de las semillas.

El análisis estadístico de dos vías indicó diferencias significativas entre los tratamientos pre-germinativos, entre las temperaturas de cultivo, entre las poblaciones y entre las interacciones de estos parámetros.

El efecto de los tratamientos pre-germinativos y de las temperaturas de cultivo sobre la germinación de semillas mostró, de manera global, la existencia de un posible patrón latitudinal con incremento hacia el sur del país ( $F_{4,120}=36,23$ ;  $p<0,001$ ). De esta manera, bajo cualquier combinación de tratamiento, la subespecie *A. ligtu simsii* (poblaciones del centro de Chile: LA y RC) presentó la menor capacidad germinativa, mientras que la subespecie más sureña *A. ligtu ligtu* (poblaciones FA y LR) fue la que presentó mayor capacidad de germinación (Tablas 4-6, Figs. 7-8).

Un patrón similar fue observado al considerar las temperaturas de cultivo con un incremento de la germinación final hacia la temperatura menor ( $F_{1,120}=361,13$ ;  $p<0,001$ ). De esta manera, a 15°C todas las poblaciones fueron capaces de germinar (2-90% capacidad germinativa), independiente del tratamiento pre-germinativo utilizado para evaluar la latencia de las semillas (Tablas 5-7, Fig.7). Mientras que a una temperatura mayor, sólo algunas poblaciones y subespecies fueron capaces de germinar aunque con un porcentaje final inferior al observado a 15°C (Fig. 8).

## Germinación a 15°C

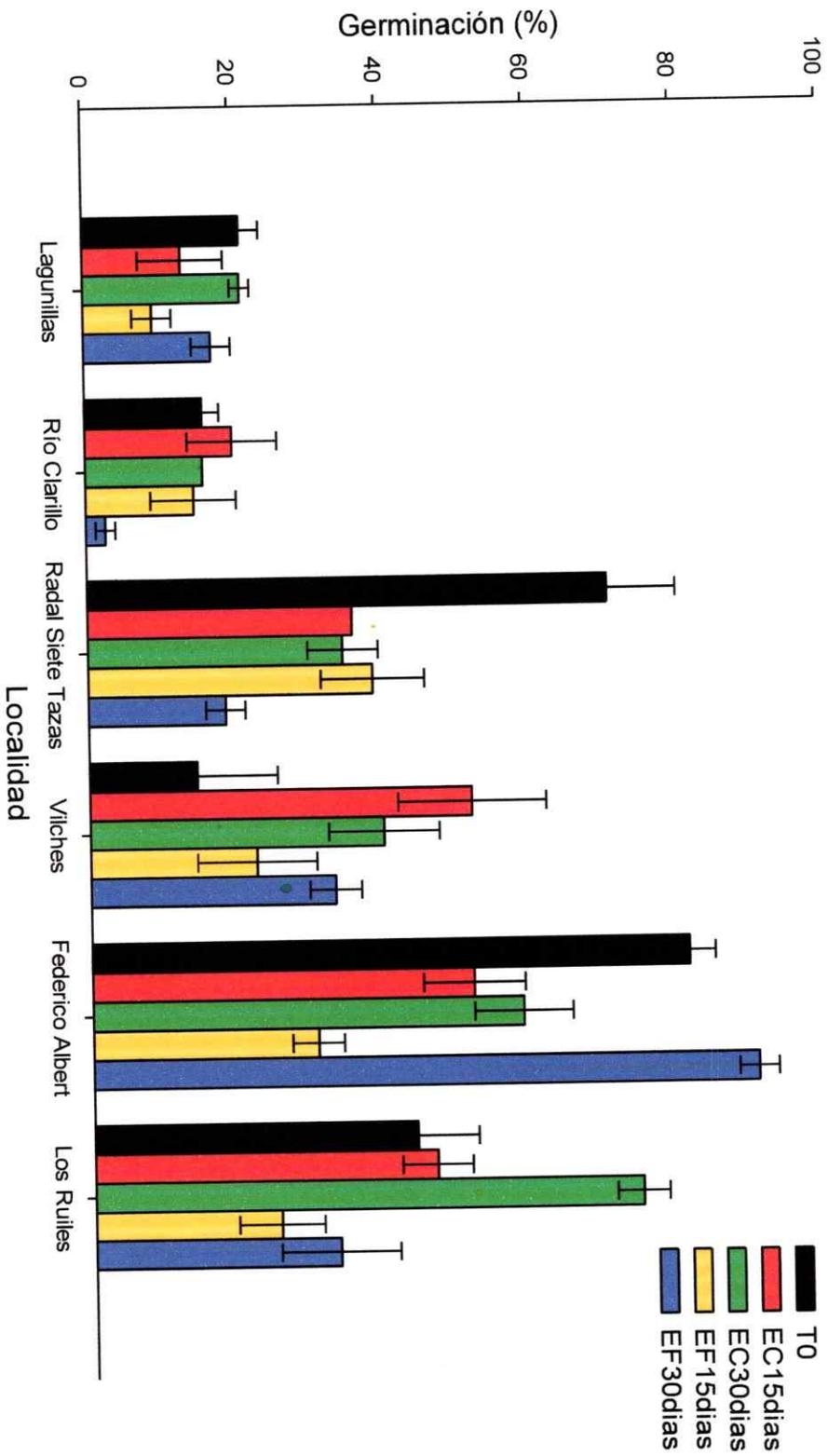


Fig.7 Porcentaje de germinación final de los distintos tratamientos ensayados para cada localidad de las tres subespecies de *Alstroemeria ligtu*. *A. ligtu simsii*: Lagunillas y Río Clarillo; *A. ligtu incamata*: Radal Siete Tazas y Vilches; *A. ligtu ligtu*: Federico Albert y Los Ruiles. La línea vertical denota 1,96 error estándar.

## Germinación a 25°C

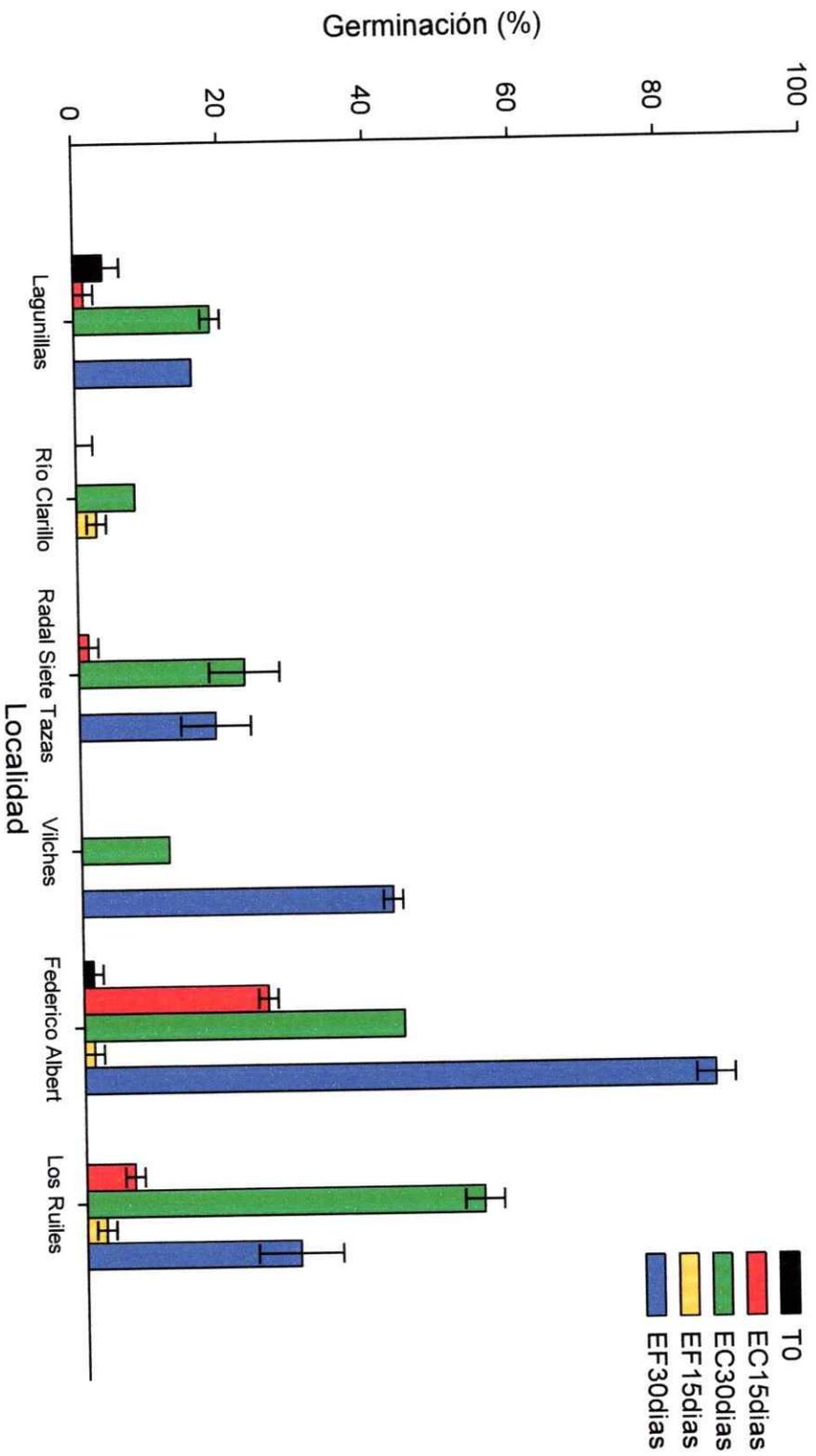


Fig. 8 Porcentaje de germinación final de los distintos tratamientos ensayados para cada localidad de las tres subespecies de *Alstroemeria ligtu*. *A. ligtu simsii*: Lagunillas y Río Clarillo; *A. ligtu incarnata*: Radal Siete Tazas y Vilches; *A. ligtu ligtu*: Federico Albert y Los RUILLES. La línea vertical denota 1,96 error estándar.

De manera general, las semillas sometidas a estratificación cálida por 30 días fueron las que mostraron una capacidad germinativa mayor que aquellas que estuvieron estratificadas en cálido por 15 días; por esto, la estratificación cálida muestra diferencias significativas en la capacidad germinativa y en la velocidad de germinación al comparar las temperaturas de cultivo. De este modo, 15°C permite que la estratificación cálida presente la máxima capacidad germinativa para *A. ligtu simsii* en ambas poblaciones (LA= 21,3%; RC= 20,0%), para *A. ligtu incarnata* en su población VI llega a 52% y para *A. ligtu ligtu* de la población LR es de 74,7%.

En lo que respecta a la estratificación fría, la capacidad germinativa muestra una directa relación con el número de días. A 15°C, las tres subespecies responden indistintamente en sus poblaciones, en algunas localidades se observa un aumento de la capacidad germinativa mientras que en otras se ve mermada esta capacidad. Considerando sólo la estratificación fría por 15 días, la subespecie *A. ligtu simsii* presentó la capacidad germinativa más alta en RC llegando al 14,7% (Tabla 4); en el caso de *A. ligtu incarnata*, ésta obtuvo su mayor capacidad en la localidad de RA alcanzando un 38,7% y, por último en *A. ligtu ligtu* se ve mermada su capacidad germinativa respecto al resto de los tratamientos. Ahora bien, viéndolo desde el punto de vista de la estratificación fría por 30 días, se favorece la germinación para *A. ligtu simsii* en la localidad de LA alcanzando un 17,3%, en el caso de *A. ligtu incarnata*, la germinación se ve favorecida en la localidad de VI llegando al 33,3%, mientras que *A. ligtu ligtu* presentó en ambas localidades altos porcentajes de germinación, siendo en FA de 90,7% y en LR de 33,3%.

Con respecto a la velocidad de germinación, los tratamientos pre-germinativos muestran diferencias significativas entre ellos ( $F_{4,120}=1197,94$ ;  $p<0,001$ ). Si bien a 15°C parecieran observarse los valores máximos más altos, éstos no son significativamente

distintos a los valores máximos observados a 25°C ( $F_{1,120}=0,0042$ ;  $p=0,9487$ ). En todo caso, la interacción entre ambas variables sí presenta diferencias significativas ( $F_{4,120}=12,89$ ;  $p<0,001$ ) para todas las poblaciones. Sin embargo, esta velocidad no estaría relacionada directamente a la capacidad germinativa, ya que en algunos casos, si bien se obtuvo altos porcentajes de capacidad germinativa no se observaron grandes valores máximos asociados a ésta.

Las semillas testigo muestran una velocidad germinativa que disminuye con el aumento de la temperatura para las seis poblaciones estudiadas. A 15°C ocurren los más altos valores, siendo la subespecie *A. ligtu ligtu* de FA la que presentó un 2,7% de velocidad germinativa (Tabla 6), el valor más alto registrado, mientras que *A. ligtu simsii* de RC presentó el menor valor, alcanzando apenas un 0,47% (Tabla 4). En lo que respecta a *A. ligtu incamata* alcanzó su máxima velocidad germinativa en la población RA, la cual fue de un 2,3% (Tabla 5). A 25°C, se observa que *A. ligtu simsii* de LA alcanzó un 0,21% de velocidad germinativa, mientras que *A. ligtu incamata* de FA apenas alcanzó un 0,04%.

Las semillas tratadas por 30 días, tanto para estratificación cálida como para fría, presentan mayoritariamente valores máximos más altos en comparación con el resto de los tratamientos, los cuales parecen ser independientes de la temperatura de cultivo, ya que tanto para 15°C como para 25°C este patrón es similar.

Tabla 4. Efecto de la temperatura sobre la germinación de semillas de *Alstroemeria ligtu simsii* con y sin tratamientos pre-germinativos.

Población	Temperatura (°C)	Tratamiento pre-germinativo	Capacidad germinativa (%)	Valor máximo (%/día)	Energía germinativa (%)	Periodo de energía (días)
Lagunillas	15	T0	21,33 ± 2,67 <sup>~abcdeghi*</sup>	0,60 ± 0,03 <sup>a</sup>	17,33	28,67
		EC15	13,33 ± 5,81 <sup>abcde</sup>	2,76 ± 1,33 <sup>ab</sup>	5,33	9,67
		EC30	21,33 ± 1,33 <sup>abcdeghi</sup>	14,66 ± 8,46 <sup>ef</sup>	14,66	1,00
		EF15	9,33 ± 2,67 <sup>abcd</sup>	0,37 ± 0,08 <sup>a</sup>	6,67	17,00
		EF30	17,33 ± 2,67 <sup>abcdefg</sup>	13,33 ± 1,33 <sup>def</sup>	13,33	1,00
	25	T0	4,00 ± 2,31 <sup>ab</sup>	0,21 ± 0,15 <sup>a</sup>	4,00	15,33
		EC15	1,33 ± 1,33 <sup>ab</sup>	0,26 ± 0,27 <sup>a</sup>	1,33	1,67
		EC30	18,67 ± 1,33 <sup>abcdeghi</sup>	12,00 ± 0,00 <sup>cdef</sup>	12,00	1,00
		EF15	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00	0,00
		EF30	16,00 ± 0,00 <sup>abcdefg</sup>	14,66 ± 1,33 <sup>ef</sup>	14,66	1,00
RN Río Clarillo	15	T0	16,00 ± 2,31 <sup>abcdefg</sup>	0,47 ± 0,06 <sup>a</sup>	14,66	30,66
		EC15	20,00 ± 6,11 <sup>abcdeghi</sup>	1,23 ± 0,22 <sup>ab</sup>	16,00	14,33
		EC30	16,00 ± 0,00 <sup>abcdefg</sup>	6,67 ± 1,33 <sup>abcd</sup>	6,67	1,00
		EF15	14,67 ± 5,81 <sup>abcdef</sup>	0,45 ± 0,18 <sup>a</sup>	14,67	32,67
		EF30	2,67 ± 1,33 <sup>ab</sup>	0,08 ± 0,04 <sup>a</sup>	2,67	22,00
	25	T0	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00	0,00
		EC15	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00	0,00
		EC30	8,00 ± 0,00 <sup>abc</sup>	8,00 ± 0,00 <sup>bode</sup>	8,00	1,00
		EF15	2,67 ± 1,33 <sup>ab</sup>	0,89 ± 0,44 <sup>ab</sup>	2,66	2,00
		EF30	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00	0,00

\* Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las interacciones de las variables.

Tabla 5. Efecto de la temperatura sobre la germinación de semillas de *Alstroemeria ligtu incarnata* con y sin tratamientos pre-germinativos.

Población	Temperatura (°C)	Tratamiento pre-germinativo	Capacidad germinativa (%)	Valor máximo (%/día)	Energía germinativa (%)	Periodo de energía (días)
RN Radal Siete Tazas	15	T0	70,67 ± 9,34 <sup>nopq*</sup>	2,30 ± 0,47 <sup>ab</sup>	66,66	29,66
		EC15	36,00 ± 0,00 <sup>efghijklm</sup>	5,33 ± 1,33 <sup>abc</sup>	5,33	1,00
		EC30	34,67 ± 4,81 <sup>efghijklm</sup>	16,00 ± 0,00 <sup>f</sup>	16,00	1,00
		EF15	38,67 ± 7,06 <sup>efghijklm</sup>	1,05 ± 0,23 <sup>ab</sup>	37,33	36,00
		EF30	18,67 ± 2,67 <sup>abcdefgh</sup>	14,67 ± 1,33 <sup>f</sup>	14,66	1,00
	25	T0	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00	0,00
		EC15	1,33 ± 1,33 <sup>ab</sup>	0,22 ± 0,23 <sup>a</sup>	1,33	2,00
		EC30	22,67 ± 4,81 <sup>abcdefghij</sup>	16,00 ± 0,00 <sup>f</sup>	16,00	1,00
		EF15	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00	0,00
		EF30	18,67 ± 4,81 <sup>abcdefgh</sup>	13,33 ± 1,33 <sup>def</sup>	13,33	1,00
RN Altos Lircay Vilches	15	T0	14,67 ± 10,91 <sup>abcdef</sup>	0,36 ± 0,27 <sup>a</sup>	14,66	26,33
		EC15	52,00 ± 10,07 <sup>klmno</sup>	1,50 ± 0,35 <sup>ab</sup>	41,33	29,00
		EC30	40,00 ± 7,50 <sup>ghijklm</sup>	12,00 ± 0,00 <sup>cdef</sup>	12,00	1,00
		EF15	22,67 ± 8,69 <sup>abcdefghij</sup>	0,57 ± 0,18 <sup>a</sup>	22,66	38,33
		EF30	33,33 ± 3,53 <sup>defghijkl</sup>	29,33 ± 1,33 <sup>g</sup>	29,33	1,00
	25	T0	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00	0,00
		EC15	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00	0,00
		EC30	12,00 ± 0,00 <sup>abcde</sup>	12,00 ± 0,00 <sup>cdef</sup>	12,00	1,00
		EF15	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00	0,00
		EF30	42,67 ± 1,33 <sup>hijklm</sup>	37,33 ± 3,53 <sup>h</sup>	37,33	1,00

\* Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las interacciones de las variables.

Tabla 6. Efecto de la temperatura sobre la germinación de semillas de *Alstroemeria ligtu ligtu* con y sin tratamientos pre-germinativos.

Población	Temperatura (°C)	Tratamiento pre-germinativo	Capacidad germinativa (%)	Valor máximo (%/día)	Energía germinativa (%)	Periodo de energía (días)
RN Federico Albert	15	T0	81,33 ± 3,53 <sup>pq*</sup>	2,70 ± 0,16 <sup>ab</sup>	78,66	29,33
		EC15	52,00 ± 6,93 <sup>klmno</sup>	12,00 ± 6,11 <sup>cdef</sup>	12,00	1,00
		EC30	58,67 ± 6,67 <sup>mno</sup>	40,00 ± 0,00 <sup>h</sup>	40,00	1,00
		EF15	30,67 ± 3,52 <sup>cdefghijkl</sup>	0,81 ± 0,09 <sup>a</sup>	29,33	36,67
		EF30	90,67 ± 2,67 <sup>q</sup>	82,67 ± 1,33 <sup>j</sup>	82,67	1,00
	25	T0	1,33 ± 1,33 <sup>ab</sup>	0,04 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,33	10,67
		EC15	25,33 ± 1,33 <sup>bcddefghij</sup>	13,33 ± 1,33 <sup>def</sup>	13,33	1,00
		EC30	44,00 ± 0,00 <sup>ijklm</sup>	40,00 ± 0,00 <sup>h</sup>	40,00	1,00
		EF15	1,33 ± 1,33 <sup>ab</sup>	1,33 ± 1,33 <sup>ab</sup>	1,33	0,33
		EF30	86,67 ± 2,67 <sup>q</sup>	81,33 ± 1,33 <sup>j</sup>	81,33	1,00
RN Los Ruiles	15	T0	44,00 ± 8,33 <sup>ijklm</sup>	1,25 ± 0,17 <sup>ab</sup>	40,00	31,00
		EC15	46,67 ± 4,81 <sup>ijklm</sup>	6,67 ± 1,33 <sup>abcd</sup>	6,67	1,00
		EC30	74,67 ± 3,53 <sup>opq</sup>	53,33 ± 1,33 <sup>i</sup>	53,33	1,00
		EF15	25,33 ± 5,81 <sup>bcddefghij</sup>	4,00 ± 0,00 <sup>ab</sup>	4,00	1,00
		EF30	33,33 ± 8,11 <sup>defghijkl</sup>	1,94 ± 0,18 <sup>ab</sup>	18,66	9,00
	25	T0	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00	0,00
		EC15	6,67 ± 1,33 <sup>abcde</sup>	2,33 ± 0,88 <sup>ab</sup>	5,33	2,66
		EC30	54,67 ± 2,67 <sup>lmno</sup>	52,00 ± 0,00 <sup>l</sup>	52,00	1,00
		EF15	2,67 ± 1,33 <sup>ab</sup>	0,53 ± 0,27 <sup>a</sup>	2,66	3,33
		EF30	29,33 ± 5,81 <sup>cdefghijk</sup>	24,00 ± 4,62 <sup>g</sup>	24,00	1,00

\* Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las interacciones de las variables.

Finalmente, si bien algunas localidades presentaron altos porcentajes de germinación iniciales durante el proceso de estratificación fría (5°C) de 30 días (datos no incluidos) pareciera ser que la combinación de tratamientos pre-germinativos con la temperatura de cultivo que maximizan la germinación promedio final ocurre a 15°C (Tabla 7).

Tabla 7. Condiciones que maximizarían la germinación de las subespecies en las distintas localidades a 15°C y días en los que ésta ocurre.

<i>Subespecie</i>	<i>Población</i>	<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Tratamiento pre-germinativo</i>	<i>Capacidad de germinación máxima</i>	<i>Periodo de energía (días)</i>
<i>A. ligtu simsii</i>	LA	15	EC30	21,33 ± 1,33	1,00
<i>A. ligtu simsii</i>	RC	15	EC30	20,00 ± 6,11	14,33
<i>A. ligtu incamata</i>	RA	15	T0	70,67 ± 9,34	29,66
<i>A. ligtu incamata</i>	VI	15	EC15	52,00 ± 10,07	29,00
<i>A. ligtu ligtu</i>	FA	15	EF30	90,67 ± 2,67	1,00
<i>A. ligtu ligtu</i>	LR	15	EC30	74,67 ± 4,81	1,00

## DISCUSION

En este estudio se caracterizaron las semillas de las subespecies de *Alstroemeria ligtu* de distintas poblaciones y, paralelamente, se evaluó el efecto de los tratamientos pre-germinativos y de las temperaturas de cultivo sobre la germinación de las semillas.

De manera general, las semillas no presentaron diferencias significativas en la mayoría de los caracteres analizados, independiente de la subespecie y de la localidad de procedencia.

Los resultados muestran que existiría un efecto sobre la germinación (capacidad germinativa y velocidad de germinación) de los tratamientos pre-germinativos y de la temperatura de cultivo. En este sentido, a 15°C no se observan grandes diferencias entre las semillas tratadas y las semillas testigo. Sin embargo, al incrementar la temperatura a 25°C, la germinación requeriría de un tratamiento pre-germinativo, el cual es independiente de la localidad y de la subespecie estudiada.

### **Caracterización de las semillas.**

Los resultados de este estudio sugieren que no existirían diferencias en el tamaño de las semillas que permitan discriminar entre las subespecies, aún cuando la localidad de RN Federico Albert presentó el menor tamaño. Se ha descrito que el tamaño de las semillas está asociado a un componente genético, aún cuando variaciones ambientales pudiesen influir en la evolución del tamaño (Baskin y Baskin, 1998). Esto explicaría la ausencia global de diferencias significativas entre las subespecies. No obstante, el menor tamaño encontrado en RN Federico Albert podría estar asociado a factores ambientales ya que la subespecie se encuentra en una zona cercana a la

costa, altamente intervenida (Reserva creada para evitar el desplazamiento de la Duna de Chanco) y donde no sólo existe flora nativa.

En lo que respecta al peso de las semillas y al número de semillas por kilo, los resultados indican que, aún cuando se observaron diferencias significativas entre las poblaciones y subespecies, no existiría un patrón altitudinal ni latitudinal. Probablemente estos caracteres estarían relacionados a las características propias de la localidad de origen (e.g. calidad del suelo, humedad, flora y fauna acompañante).

La ausencia de diferencias significativas en el contenido de humedad entre las poblaciones y subespecies (tanto para semillas testigo como para las semillas remojadas por 24hr) sugiere permeabilidad de la testa y, además, de acuerdo a Hartmann *et al.* (2001) las semillas estarían aptas para germinar ya que el contenido de humedad que adquieren está entre 40-60%. Estos resultados nos permitieron descartar otros tratamientos pre-germinativos tales como remojo en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, el cual se utiliza para romper latencia física o mecánica de las semillas. Este tipo de latencia física ha sido descrita en otras especies como *Alstroemeria magnifica* spp. *magnifica* (Machuca, 2006) donde probablemente, la germinación de las semillas requiere del paso por el tracto digestivo de algún dispersor.

Por último, no se observó gran variación en el porcentaje de embriones viables presentes en las semillas, independiente de la localidad y de la subespecie.

#### **Efecto de los tratamientos pre-germinativos y temperaturas de cultivo sobre la germinación de semillas.**

La germinación final que se observó muestra que la mayoría de las poblaciones presentan una mejor respuesta germinativa a 15°C que a 25°C, la cual es independiente del tratamiento. Algunas poblaciones fueron capaces de germinar

durante el proceso de estratificación fría (5°C) de 30 días, lo que estaría indicando que las subespecies de *Alstroemeria ligtu* podrían presentar una latencia fisiológica, la cual se ve mayormente reflejada en Federico Albert. Cabe destacar que existe un amplio rango de latencia, que va desde latencia absoluta, en la cual la germinación no se produce bajo ninguna condición, pasando por latencias intermedias donde las semillas pueden germinar sólo cuando están las condiciones adecuadas, hasta el extremo donde no hay latencia y las semillas pueden germinar en un amplio rango de condiciones ambientales (Varela y Arana, 2011). En este caso, la posible latencia fisiológica mostrada en Lagunillas y Río Clarillo sea más intensa que el resto de las localidades, es decir, poseerían un mayor grado de latencia que podría estar condicionado por el medio en el que habitan y, dado que son localidades cordilleranas y que se encuentran a 1100 msnm, es muy posible que los tratamientos no hayan sido los adecuados y quizá faltó que acumularan más horas de frío. En otras palabras, podría decirse que la subespecie *A. ligtu simsii* presentaría un mayor grado de latencia fisiológica en comparación con las otras dos subespecies, las cuales tendrían un grado leve o intermedio de latencia.

En los cultivos a 15°C la capacidad germinativa y la velocidad de germinación de las semillas parecieran ser independientes de los tratamientos pre-germinativos. Estos resultados impiden concluir categóricamente que las semillas posean una latencia morfológica y, más bien, estarían indicando solamente un efecto de la temperatura a la cual estuvieron sometidas las semillas, ya que los porcentajes de germinación final entre los tratamientos cálidos y las semillas testigo son prácticamente iguales en la mayoría de las localidades. Respecto a lo que ocurre con los cultivos a 25°C, se observa que no es una temperatura adecuada que favorezca la germinación, lo cual puede estar asociado a las temperaturas medias de los lugares de origen de las

subespecies. Con estos resultados tampoco es posible confirmar una latencia combinada, para ello sería necesario realizar otros ensayos que incluyan una estratificación cálida seguida por una estratificación fría y luego someter a las semillas a distintas temperaturas de cultivo, ya que semillas tratadas presentan un rango más amplio de temperaturas que favorecen la germinación comparadas con semillas sin tratar. De todos modos, se ha descrito que temperaturas cálidas pueden reducir la latencia mediante la inactivación de inhibidores de germinación o alterando la respiración celular (Bell, 1999). Esta característica la presentan especies como *Jubaea chilensis*, *Peumus boldus* y varias especies de *Alstroemeria* (Figuroa y Jaksic, 2004). También se ha descrito que existen ciertos reguladores de crecimiento endógenos, principalmente citoquininas y giberelinas, que influirían significativamente sobre el rango de temperaturas a las cuales las semillas pueden germinar (Herrera y Alizaga, 1995). Además, Varela y Arana (2011) sugieren que el nivel de latencia varía con la procedencia de las semillas, con el año de cosecha e incluso varía dentro de un mismo lote de semillas. Posiblemente los resultados poco concluyentes respecto a la existencia de una latencia morfológica sea producto de lo antes mencionado, de la época de recolección del material y del periodo de almacenamiento.

Por otro lado y, en un contexto ecológico, la variación en la posible latencia fisiológica de las semillas de las subespecies de *Alstroemeria ligtu*, sugeriría un mecanismo que evitaría que las pequeñas plántulas emerjan del suelo cuando las condiciones ambientales son inadecuadas para su establecimiento exitoso (Figuroa y Jaksic, 2004). Debido al efecto negativo observado en la germinación a 25°C, uno podría especular sobre los posibles efectos poblacionales de *A. ligtu* frente a variaciones en la temperatura causadas por el continuo calentamiento global. Entonces, de haber diferencias en las respuestas germinativas entre las subespecies, éstas se observarían

en condiciones ambientales que superen los 15°C; es por esto que, temperaturas elevadas (25°C) podrían estar inhibiendo ciertos reguladores endógenos y, por ello, se ve mermada la capacidad germinativa de estas semillas en particular, por lo cual, se hace necesario realizar un tratamiento pre-germinativo que permita aumentar el rango de temperaturas a la cual pueden germinar las semillas.

De acuerdo a los resultados obtenidos, 15°C pareciera ser la temperatura de cultivo ideal para maximizar la germinación, independiente del tratamiento pre-germinativo de las semillas. A esta temperatura, existiría un patrón latitudinal, es decir, al incrementar la latitud aumentaría la capacidad germinativa y la velocidad de germinación. De acuerdo a lo mencionado, se observó que la subespecie *A. ligtu simii* (la más ecuatorial) presentó menor germinación que *A. ligtu ligtu* (la más austral). Además, pareciera existir un patrón altitudinal inverso, es decir, al aumentar la altitud disminuye la capacidad germinativa y la velocidad de germinación, por lo que no se puede descartar que a temperaturas menores, por ejemplo 5°C o 10°C, la respuesta germinativa sea aún mejor que la obtenida en este estudio, sobre todo para aquellas localidades cordilleranas que superan los 1100 msnm.

Por otro lado y a la luz de estos resultados, se podría concluir que la germinación máxima de las semillas es similar entre las subespecies y ocurriría a temperaturas de cultivo de 15°C, donde los tratamientos pre-germinativos no serían necesarios para estimular la germinación. Sin embargo, a temperaturas mayores de 15°C, los pre-tratamientos parecen ser necesarios para ampliar el rango de temperaturas a las cuales pueden germinar las semillas y eliminar o mermar las posibles latencias que presenten las subespecies.

Combinando los caracteres morfológicos con los tratamientos de germinación podríamos sugerir que el tamaño de las semillas no determinaría el éxito germinativo

de las subespecies. La permeabilidad de las semillas descartaría algún tipo de latencia física y, en consecuencia, descartaría tratamientos pre-germinativos que afecten negativamente a las semillas y al embrión. Las subespecies producen mayoritariamente semillas con embriones viables, sin embargo, el éxito germinativo no dependerá exclusivamente de esto, ya que en muchos casos, los embriones que se consideraban viables no habrían alcanzado la madurez suficiente para germinar, aún cuando las condiciones sean aptas para ello, posiblemente se haya debido a que los tratamientos no fueron los adecuados para la mayoría de las localidades o el ensayo de germinación fue de muy corta duración.

Aún cuando la germinación en condiciones de laboratorio no necesariamente es lo que ocurre en la naturaleza (Mayer y Poljakoff-Mayber, 1989), estos estudios contribuyen con información vital para el manejo efectivo y la recuperación de especies amenazadas y de las comunidades ecológicas en general. Por ello, este estudio adquiere importancia ya que describe las condiciones básicas, necesarias y relevantes para la germinación de *Alstroemeria ligtu*, las cuales pueden servir en caso de generar modelos predictivos sobre la posible respuesta de esta especie frente a cambios en el clima o en el uso del suelo. Además, de manera general, facilitaría la planificación de prácticas de propagación y restauración de las subespecies de *A.ligtu*, permitiría incrementar efectivamente la capacidad germinativa de las semillas para reforestar su hábitat natural y, de esa manera, mantener el amplio rango de variabilidad genética en condiciones de cultivo.

## REFERENCIAS

Aker, S. y Healy, W. The phylogeography of the genus *Alstroemeria*. *Herbertia* 46(2): 76-87. 1990.

Baeza, C.M., Schrader, O., Ruiz, E. y Negritto, M. Análisis comparativo del cariotipo en poblaciones de *Alstroemeria ligtu* subsp. *ligtu* y *A. ligtu* subsp. *simsii* (ALSTROEMERIACEAE) de Chile. *Darwiniana* 44(2): 313-318. 2006.

Baeza, C.M., Schrader, O., Ruiz, E. y Negritto, M. *Alstroemeria persiliana* Herb. (ALSTROEMERIACEAE) en Chile bajo una perspectiva citogenética. *Chilean Journal of Agricultural Research* 68(4): 328-333. 2008.

Baskin, C.C. y Baskin, J.M. *Seeds: Ecology, Biogeography and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press. San Diego, California, USA. 1998. 666p.

Bayer, E. Die gattung *Alstroemeria* in Chile. *Mitteilungen der Botanischen Staatssammlung. München* 2. 1987: 362p.

Bell, D.T. The process of germination in Australian species. *Australian Journal of Botany* 47: 475-517. 1999.

Botto-Mahan, C., Ramírez, P.A., Ossa, C.G., Ojeda-Camacho, M., Medel, R. y González, A.V. Floral herbivory affects female reproductive success and pollinator visitation in the perennial herb *Alstroemeria ligtu* (Alstroemeriaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 172: 1130-1136. 2011.

Bouwen, I. y Van Der Vlugt, R.A.A. Identification and characterization of potyviruses of *Alstroemeria* spp. *Acta Horticulturae* 432. 1996.

Bridgen, M.P., Olate, E. y Schiappacasse, F. Flowering geophytes from Chile. *Acta Horticulturae* 570: 75-80. 2002.

Buitendijk, J.H., Peters, A., Quene, R.J. y Ramanna, M.S. Genome size variation and C-band polymorphism in *Alstroemeria aurea*, *A. ligtu* and *A. magnifica* (ALSTROEMERIACEAE). *Plant Systematic and Evolution* 212: 87-106. 1997.

Cabello, A., Sandoval, A. y Carú, M. Efecto de los tratamientos pregerminativos y de las temperaturas de cultivo sobre la germinación de semillas de *Talguenea quinquenervia* (Talguén). *Ciencias Forestales* Vol. 16 Nº 1-2. 2001-2002.

Figueroa, J.A. y Jaksic, F.M. Latencia y banco de semillas en plantas de la región mediterránea de Chile central. *Revista Chilena de Historia Natural* 77: 201-215. 2004.

De Jeu, M.J. y Jacobsen, E. Early postfertilization ovule culture in *Alstroemeria* L. and barriers to interspecific hybridization. *Euphytica* 86: 15-23. 1995.

Hartmann, H.T., Kester, D.E., Davies, F.T. y Geneve, R.L. *Plant Propagation: Principles and Practices*. Prentice Hall 2001. 7th ed. 880p.

Herrera, J. y Alizaga, R. Efecto de la temperatura sobre la germinación de la semilla de la China (*Impatiens balsamina*). *Agronomía Costarricense* 19(1):79-84, 1995.

Hutchinson, M.J., Senaratna, T., Tsujita, J.M. y Saxena, P.K. Somatic embryogenesis in liquid cultures of a tetraploid *Alstroemeria*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 47: 293-297. 1997.

ISTA Handdbook on Seedling Evaluation. 3th ed. Zurich, Switzerland. International Seed Testing Association. 2003. 232p.

Machuca, A. Efecto de la estratificación de embriones y escarificación de semillas sobre el crecimiento de *Alstroemeria* spp. in vitro. Tesis (Ingeniero Agrónomo, mención en Fitotecnia). Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, 2006. 21p.

Mayer, A.M. y Poljakoff-Mayber, A. The Germination of Seeds. Pergamon Press. Oxford. 1989. 236p.

Muñoz, M. Tres nuevas monocotiledoneas descubiertas en Chile: *Alstroemeria mollensis* M. Muñoz et A. Brinck (ALSTROEMERIACEAE), *Miersia chilensis* var. *bicolor* M. Muñoz (GILLIESIACEAE) y *Calydorea chilensis* M. Muñoz (IRIDACEAE). Gayana Botánica 60(2): 101-106. 2003.

Muñoz, M y Moreira, A. Alstroemerias de Chile: Diversidad, distribución y conservación. Taller La Era, Santiago, Chile. 2003. 140p.

Ruiz, E., Balboa, K., Negritto, M.A., Baeza, C.M., Fuentes, G. y Briceño, V. Variabilidad genética y morfológica y estructuración poblacional en *Alstroemeria hookeri* subsp. *hookeri* (ALSTROEMERIACEAE), endémica de Chile. Revista Chilena de Historia Natural 83: 605-616. 2010.

Sanso, A.M. y Xifreda, C.C. Generic delimitation between *Alstroemeria* and *Bomarea* (ALSTROEMERIACEAE). Annals of Botany 88: 1057-1069. 2001.

Varela, S.A. y Arana, V. Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. Sistemas Integrales Forestales. Sección: Silvicultura en Vivero. Cuadernillo N°3. 2011. 10p.

Zhou, S., De Jeu, M.J., Visser, R. y Kuipers, A. Characterization of distant *Alstroemeria* hybrids: application of highly repetitive DNA sequences from *A. ligtu* ssp. *ligtu*. Annals of Applied Biology 142: 277-283. 2003.

## ANEXOS

Anexo I: Resultados de ANOVA de dos vías de todas las variables estudiadas y sus interacciones para la Capacidad Germinativa.

<i>F.V.</i>	<i>SC</i>	<i>gl</i>	<i>CM</i>	<i>F</i>	<i>p-valor</i>
<i>Modelo</i>	101110,31	59	1713,73	29,84	<0,0001
<i>L</i> <sup>1</sup>	30213,78	5	60,4276	105,23	<0,0001
<i>P</i>	11372,09	4	2843,02	49,51	<0,0001
<i>T</i>	20736,80	1	20736,80	361,13	<0,0001
<i>L*P</i>	20929,78	20	1046,49	18,22	<0,0001
<i>L*T</i>	3431,20	5	686,24	11,95	<0,0001
<i>P*T</i>	8321,42	4	2080,36	36,23	<0,0001
<i>L*P*T</i>	6105,24	20	305,26	5,32	<0,0001
<i>Error</i>	6890,67	120	57,42		
<i>Total</i>	108000,98	179			

<sup>1</sup> L: Localidad; P: Tratamiento pre-germinativos; T: Temperatura de cultivo.

Anexo II: Resultados de ANOVA de dos vías de todas las variables estudiadas y sus interacciones para la Velocidad Máxima.

<i>F.V.</i>	<i>SC</i>	<i>gl</i>	<i>CM</i>	<i>F</i>	<i>p-valor</i>
<i>Modelo</i>	60920,59	59	1032,55	211,54	<0,0001
<i>L</i> <sup>1</sup>	12374,61	5	2474,92	507,03	<0,0001
<i>P</i>	23389,62	4	5847,40	1197,95	<0,0001
<i>T</i>	0,02	1	0,02	4,2E-03	0,9487
<i>L*P</i>	25170,63	20	1208,53	247,59	<0,0001
<i>L*T</i>	94,97	5	18,99	3,89	0,0026
<i>P*T</i>	251,68	4	62,92	12,89	<0,0001
<i>L*P*T</i>	639,06	20	31,95	6,55	<0,0001
<i>Error</i>	585,75	120	4,88		
<i>Total</i>	61506,33	179			

<sup>1</sup> L: Localidad; P: Tratamiento pre-germinativos; T: Temperatura de cultivo.