

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA

Memoria de Título

**EFFECTO DE LA ESTRATIFICACIÓN DE EMBRIONES Y ESCARIFICACIÓN DE
SEMILLAS SOBRE EL CRECIMIENTO DE *Alstroemeria spp.* IN VITRO.**

ALEJANDRA PATRICIA MACHUCA VARGAS

Santiago, Chile

2006

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA

Memoria de Título

**EFFECT OF THE STRATIFICATION OF EMBRYOS AND SCARIFICATION OF
SEEDS ON THE GROWTH OF *Alstroemeria spp.* IN VITRO.**

ALEJANDRA PATRICIA MACHUCA VARGAS

Santiago, Chile

2006

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA

MEMORIA DE TÍTULO

**EFFECTO DE LA ESTRATIFICACIÓN DE EMBRIONES Y ESCARIFICACIÓN DE
SEMILLAS SOBRE EL CRECIMIENTO DE *Alstroemeria spp.* IN VITRO.**

Memoria para optar al Título
Profesional de Ingeniero Agrónomo
Mención: Fitotecnia

ALEJANDRA PATRICIA MACHUCA VARGAS

PROFESOR GUÍA	CALIFICACIONES
Sr. Rodrigo Infante E. Ingeniero Agrónomo, Dr.	7.0
PROFESORES EVALUADORES	
Sra. Gladys Fernández H. Ingeniero Agrónomo, Mg Sc.	7.0
Sr. Jaime Auger S. Ingeniero Agrónomo, MS., Ph. D.	5.5
COLABORADOR	
Sr. Danilo Aros O. Ingeniero Agrónomo	

Santiago, Chile
2006

*A mis padres
y a mi hermana.*

AGRADECIMIENTOS

Comienzo por agradecer el incondicional apoyo, cariño y sobretodo comprensión de mis queridos padres a lo largo de toda mi vida, en especial en esta etapa que muchas veces se les hizo interminable.

A mi hermana Carolina, por sus sabios consejos y por estar siempre dispuesta a escucharme en los momentos de desánimo. Creo que sin sus palabras, quizás no hubiera finalizado esta etapa.

A mi gran amiga Natalia y a Carlo, por su valiosa y desinteresada ayuda en la realización de esta memoria...muchas gracias por vuestra compañía.

A Danilo Aros por facilitarme el material y sus ideas. Gracias por estar siempre dispuesto a colaborar con este trabajo.

A mi profesor guía Sr. Rodrigo Infante y a la Sra. Gladys Fernández por sus acertados aportes a esta investigación.

También quisiera agradecer al Sr. Pedro León y a Pablo Guerrero del Banco Base de Semillas de INIA por la gentileza de proporcionarme parte del material utilizado en esta memoria.

A Dios...

INDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
MATERIALES Y MÉTODOS	5
Materiales.....	5
Métodos.....	5
Desinfección del material.....	5
Escarificación de semillas.....	5
Corte de semillas.....	5
Cultivo in vitro de semillas.....	6
Aclimatación de plantas.....	6
Evaluaciones.....	6
Diseño experimental y análisis estadístico.....	7
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	8
Germinación.....	8
Aclimatación de plantas.....	11
CONCLUSIONES	12
BIBLIOGRAFÍA	13
ANEXO 1	15

RESUMEN

El género *Alstroemeria* posee 49 taxones de origen chileno y se caracteriza por tener flores de un gran atractivo de colores y adaptarse a una gran variedad de condiciones edafoclimáticas. Además, tiene un importante valor comercial como flor de corte. Sin embargo, poco se conoce acerca de la germinación de semillas. Con el objetivo de determinar la influencia de la estratificación de embriones y escarificación de semillas sobre la germinación y crecimiento de alstroemeria in vitro, y establecer el efecto de la escarificación y estratificación en el posterior desarrollo de *Alstroemeria spp.*, se realizaron dos ensayos. El primer ensayo consistió en evaluar el efecto de la escarificación con ácido sulfúrico y corte a la semilla con embrión expuesto en la especie *Alstroemeria magnifica ssp. magnifica*. Adicionalmente, se evaluó el efecto de la estratificación con temperaturas alternantes de 25/7°C durante cuatro semanas. En el segundo ensayo se evaluó el efecto de la estratificación en semillas con embriones expuestos utilizando el mismo régimen de temperaturas mencionado anteriormente en las especies *A. exserens*, *A. philippi*, *A. pulchra* y *A. werdermannii*.

La respuesta al corte de semilla fue superior a la escarificación en cuanto a porcentaje y velocidad de germinación en *A. magnifica ssp. magnifica*. La estratificación no mejoró significativamente los resultados.

En las especies *A. exserens*, *A. philippi*, *A. pulchra* y *A. werdermannii* la estratificación no mejoró el porcentaje de germinación, por lo que se confirmó que al realizar un corte a las semillas se obtiene un mejor resultado en cuanto a porcentaje y velocidad de germinación.

Se concluyó que las semillas de alstroemerias tienen latencia física impuesta en mayor medida por la testa.

Palabras Clave: *Alstroemeria*, germinación, tratamientos a la semilla.

ABSTRACT

Alstroemeria genus have 49 taxon of chilean origin and is characterized for exhibit a wide range of colors and to adapt to great variety of conditions the soil and climatic. Furthermore, has an important cut flower value. However, germination is not known. The objectives of this study was to determinate the influence of the stratification of embryos and scarification of seeds on the germination and growth of alstroemeria in vitro; and to establish the effect of the scarification and stratification in the development of *Alstroemeria spp.* This study was conducted in two trial. The first one scarification and cut seed was evaluated in *A. magnifica ssp. magnifica*. Additional, the effect of the stratification was evaluated by temperatures fluctuating of 25/7°C for 4 weeks. In the second trial, the effect of the stratification was evaluated in cut seeds of *A. exserens*, *A. philippi*, *A. pulchra* y *A. werdermannii*.

The response to seeds cut was superior to scarification as for percentage and speed of germination in *A. magnifica ssp. magnifica*. The stratification did not improve the results significantly.

Stratifying in *A. exserens*, *A. philippi*, *A. pulchra* y *A. werdermannii* did not improve the percentage of germination.

The treatments of cut seeds presented better germination's percentage and speed in all evaluated species.

In conclusion, the seeds of alstroemeria presented physical dormancy imposed by the seedcoat.

Key words: *Alstroemeria*, germination, seed treatments.

INTRODUCCIÓN

El territorio chileno goza de una notable diversidad florística, reflejada en la gran cantidad de especies endémicas, producto de la alta diversidad climática y topográfica, además de la naturaleza del país como una isla biogeográfica (Squeo y Arroyo, 2001). Dentro de esta diversidad de especies se destaca el grupo de las geófitas, con aproximadamente 180 especies, de las cuales casi el 90% son endémicas (Benoit, 1989), como por ejemplo, las especies de las familias Alliaceae, Amaryllidaceae, Tecophilaceae y Alstroemeriaceae.

En particular el género *Alstroemeria*, perteneciente a la familia Alstroemeriaceae, posee 49 taxas de origen chileno, las que están distribuidas desde la I a la XII región (Muñoz y Moreira, 2003), por lo que constituyen un recurso nativo con un alto potencial ornamental, dado que en su forma silvestre se encuentran en una gran variedad de condiciones edafoclimáticas. Para muestra de ello, en esta investigación se utilizaron cinco especies del género *Alstroemeria* provenientes de variados ecosistemas. La especie *A. philippii* habita en roqueríos y arenas del litoral e interior de las regiones de Atacama y Coquimbo (27°47' S y 29°20'S), mientras que *A. werdermannii* habita en suelos arenosos de la costa sur de la región de Atacama y norte de la región de Coquimbo (27°50'S y 29°40'S). La especie *A. exserens* reside en suelos pedregosos y se distribuye en las regiones Metropolitana, Sexta y Séptima, desde el paralelo 33°18'S hasta el 36°04'S, entre 1900 y 2700msnm. Por otro lado, la especie *A. pulchra* habita entre el Cerro Pan de Azúcar al sur de Coquimbo hasta la cuesta Lo Prado en la Región Metropolitana, tanto en la costa como el interior (0-400msnm), de este modo, es posible encontrarla en cerros, quebradas y llanos soleados, entre el paralelo 29°59'S y el 33°28'S. Y por último, la especie *A. magnifica ssp. magnifica*, se distribuye desde el sur de Chungungo hasta la cuesta Las Cardas en el litoral y cordillera de la costa en la Región de Coquimbo desde los 29°26'S hasta 30°18'S (Muñoz y Moreira, 2003).

Hoy en día, las alstroemerias tienen un alto valor comercial debido a su amplia y atractiva gama de colores, además de su larga vida en florero (Akatsu y Sato, 2002; Van Schaik *et al.*, 2000; King y Bridgen, 1990). No obstante, las variedades que actualmente se comercializan tanto en Chile, como en el resto del mundo, han sido desarrolladas en programas de mejoramiento genético por países extranjeros, utilizando especies chilenas como material parental.

En este sentido, el estudio de la propagación de especies silvestres es importante dado su valor genético y a la vez, porque permite desarrollar planes de protección de zonas amenazadas por desertificación, erosión, pastoreo, urbanización, además de su explotación indiscriminada (Squeo y Arroyo, 2001).

La propagación comercial de alstroemerias a través de semillas no es muy común debido a la alta variabilidad en el porcentaje de germinación, y por otro lado, al largo tiempo requerido para que germinen (King y Bridgen, 1990). Estudios en germinación de *Bomarea*

(Acosta *et al.*, 2004), perteneciente a la misma familia del género *Alstroemeria*, plantean que estas semillas tendrían una latencia de tipo embrionario, la que se define como la incapacidad que tiene el embrión de germinar, incluso bajo condiciones adecuadas. Este tipo de latencia puede eliminarse cuando existan factores que provoquen cambios en las características anatómicas, morfológicas o fisiológicas del embrión, tales como la estratificación a ciertas temperaturas, condiciones de iluminación y administración de reguladores de crecimiento (García, 2005; Hartman *et al.*, 1997).

Por otra parte, existen antecedentes de que las alstroemerias requieren de un período de temperaturas elevadas para activar la germinación, haciendo que el establecimiento de las plántulas se inicie en otoño cuando las temperaturas descienden. De esta manera, las altas temperaturas lograrían reducir la latencia inactivando los inhibidores de germinación o alterando la respiración celular. A este proceso se le conoce como estratificación cálida (Thompson *et al.*, 1979).

Actualmente, existe experiencia en cultivo in vitro de alstroemerias sobre rizomas, óvulos, anteras, tépalos, explantes de hoja, entre otros (Lin *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 2001), pero no en germinación de semillas in vitro, técnica que facilitaría el avance en mejoramiento genético y en la producción comercial de plantas de este género (Bridgen *et al.*, 2002), dado que no restringe estacionalidad y se realiza bajo condiciones controladas.

Los objetivos de la presente investigación son:

- Determinar la influencia de la estratificación de embriones y escarificación de semillas sobre la germinación y crecimiento de alstroemeria in vitro.
- Establecer el efecto de la escarificación y estratificación en el posterior desarrollo de *Alstroemeria spp.*

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Se utilizaron semillas de *Alstroemeria exserens* Meyen, *A. magnifica* Herbert *ssp. magnifica*, *A. philippii* Baker, *A. pulchra* Sims y *A. werdermannii* Bayer (Anexo1), obtenidas del Banco Base de Semillas perteneciente al Instituto de Investigaciones Agropecuarias ubicado en la localidad de Vicuña en la IV región y de la colección de semillas del Ingeniero Agrónomo Sr. Danilo Aros Orellana.

Las especies *A. philippii* y *A. werdermannii* provenientes del Banco Base de Semillas fueron conservadas a -18°C y su fecha de colecta corresponde a noviembre de 2002 y enero de 2003 respectivamente, en tanto que *A. magnifica ssp. magnifica*, *A. exserens* y *A. pulchra* estaban almacenadas a temperatura ambiente y su fecha de recolección es de marzo de 2003 para *A. magnifica ssp. magnifica* y *A. exserens* y marzo de 2004 para *A. pulchra*.

El ensayo se llevó a cabo en el Laboratorio de Genética Vegetal y de Certificación Frutal del Departamento de Producción Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile durante los meses de Junio a Septiembre de 2005.

Métodos

Desinfección del material

Las semillas se sumergieron en etanol 95% v/v por 5 min. Posteriormente, se sumergieron en una solución con hipoclorito de sodio al 5% v/v más una gota de detergente industrial por 20 min y se lavaron en agua destilada estéril. Se colocaron a embeber en placas Petri con agua destilada por 48 h a 25°C en oscuridad y finalmente fueron inmersas en etanol 70% v/v por 3 min y lavadas con agua destilada estéril (Hutchinson *et. al.*, 1997).

Escarificación de semillas

Las semillas se sumergieron en H_2SO_4 (98%) por 1 min y luego se lavaron tres veces con agua destilada estéril.

Corte de semillas

Las semillas se cortaron radialmente, dejando los embriones directamente expuestos al medio de cultivo (Figura 1a y 1b). El corte fue realizado cuidadosamente en el lado opuesto al hilum.

Cultivo in vitro de semillas

Los embriones expuestos, las semillas escarificadas y no escarificadas se colocaron en tubos de ensayo de 50 mL con medio de cultivo MS (Murashige y Skoog, 1962). Los tubos se sellaron con aluminio laminado y Parafilm®, y luego fueron llevados a una cámara de crecimiento a 25°C con un fotoperíodo de 16/8 horas de luz/oscuridad. Posteriormente, un grupo de ellas fueron colocadas a 7°C durante 4 semanas. Los tratamientos se indican en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Tratamientos aplicados a semillas *A. magnifica ssp. magnifica*.

Tratamiento	Semilla	Temperatura (C°)
1 (Testigo)	Completa	25 (8 semanas)
2	Escarificada	25 (8 semanas)
3	Con Corte	25 (8 semanas)
4	Completa	25 (4 sem) – 7 (4 sem)
5	Escarificada	25 (4 sem) – 7 (4 sem)
6	Con corte	25 (4 sem) – 7 (4 sem)

Aclimatación de plantas

La aclimatación se realizó en *A. magnifica ssp. magnifica* cada vez que las plantas alcanzaron dos a tres hojas expandidas. Las plantas se desinfectaron en una solución con 0,75g/L de Captan y 0,3 g/L de Benlate y se transfirieron a frascos de vidrio de 200 mL con turba en las condiciones de la cámara de crecimiento descritas. A los 7, 14 y 21 días se midió la altura de cada planta con un pie de metro.

Los tratamientos aplicados a las especies *A. exserens*, *A. philippi*, *A. pulchra* y *A. werdermannii* se muestran en el Cuadro 2:

Cuadro 2. Tratamientos aplicados a las semillas de *A. exserens*, *A. philippi*, *A. pulchra* y *A. werdermannii*.

Tratamiento	Semilla	Temperatura (C°)
1	Con corte	25 (8 semanas)
2	Con corte	25 (4 sem) – 7 (4 sem)

Evaluaciones

Se evaluó el porcentaje de germinación y los días a germinación durante ocho semanas para las cinco especies tratadas. Se consideró como semilla germinada cuando el rizoma salió a la superficie del medio de cultivo. Durante el proceso de aclimatación se midió la altura de las plantas a los 7, 14 y 21 días.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado, la unidad experimental se constituyó por 15 semillas con 3 repeticiones por tratamiento para medir el porcentaje de germinación. Para determinar la velocidad de germinación y altura de las plántulas la unidad experimental fue la semilla individual.

Los datos fueron sometidos a un Análisis de Varianza (ANDEVA), para separar las medias de los tratamientos y cuando existió diferencia significativa se utilizó la prueba de comparación múltiple de Tukey al 95%. Los valores porcentuales fueron transformados con el logaritmo natural.

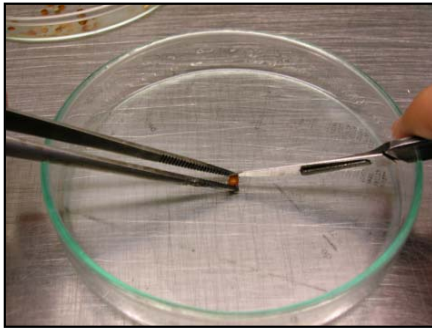


Figura 1a . Corte de semillas.

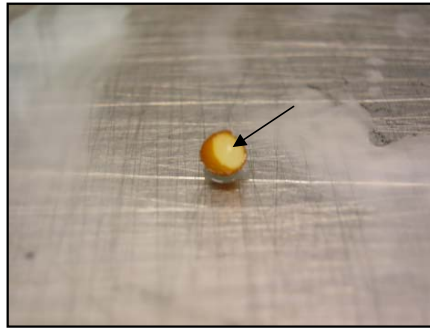


Figura 1b. Semilla cortada con embrión expuesto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Germinación

En la especie *A. magnifica ssp. magnifica*, los tratamientos que consideraron embriones expuestos mostraron los más altos porcentajes de germinación (Cuadro 3), observándose una diferencia significativa respecto de los demás tratamientos. Este resultado sugiere, en un principio, que las semillas de alstroemeria tendrían una latencia física impuesta por la testa y/o el endospermo más que una latencia fisiológica o de tipo embrionario como lo indican Acosta *et al.* (2004). Queda en evidencia además que estos tratamientos mostraron las mayores velocidades de germinación, siendo incluso 20 veces más rápidas que el tratamiento con escarificación.

King y Bridgen (1990), por el contrario a lo encontrado en esta investigación, obtuvieron el más bajo porcentaje de germinación al realizarle corte a las semillas de alstroemerias comerciales. Sin embargo, existe una diferencia en los materiales utilizados, ya que todas las especies utilizadas en el presente ensayo son silvestres.

Cuadro 3. Porcentaje de germinación y días a germinación de *A. magnifica ssp. magnifica* para distintos tratamientos a la semilla y regímenes de temperatura.

Tratamiento	Semilla	Temperatura (C°)	Días a Germinación	Porcentaje de Germinación (%)
1	Completa	25 ¹	-	0 a
2	Escarificada	25	18,33 b	8,87 b
3	Con corte	25	4,17 a	68,87 c
4	Completa	25/7 ²	79,00 c	22,20 b
5	Escarificada	25/7	16,00 b	11,13 b
6	Con corte	25/7	5,45 a	62,20 c

Valores dentro de las columnas seguidos de una misma letra no resultaron estadísticamente diferentes a un nivel de confianza de $P < 0,05$, según comparación múltiple de medias. Test Tukey

¹ Semillas permanecieron a 25°C durante 8 semanas.

² Semillas a 25°C durante 4 semanas y a 7°C durante 4 semanas.

Las especies estudiadas habitan en una zona agroecológica caracterizada por una estación cálida y seca durante el verano, y una estación fría y lluviosa durante el invierno, la cual se extiende desde mayo a septiembre (di castri y Hajek, 1976). Tomando en cuenta tales condiciones, Thompson *et al.* (1979), señalan que las alstroemerias poseen una latencia fisiológica y física combinada puesto que al remover la testa y realizar pretratamientos con temperaturas alternantes de 26/16°C la germinación de *A. pulchra* se veía incrementada, en tanto que King y Bridgen (1990), afirman que las semillas de alstroemeria poseen distintos grados de latencia dado que en tal investigación algunas semillas germinaron bajo condiciones de calor constante y otras requerían un período de frío para romper la latencia. Lo anterior podría explicarse por la alta variabilidad en cuanto al grado de madurez dentro

de un mismo lote de semillas, característica común dentro de las especies silvestres (Acosta *et al.*, 2004). En este sentido, es posible que entre especies silvestres, se presenten exigencias más específicas de temperatura para promover la germinación. No obstante, en esta investigación todas las especies evaluadas respondieron de manera similar, atendiendo positivamente al tratamiento de corte a la semilla en cuanto a velocidad de germinación, aún cuando provienen de ecosistemas diferentes como ya ha sido mencionado. Igualmente, King y Bridgen (1990), encontraron una rápida germinación con el corte a la semilla pese a los distintos grados de madurez de las semillas y a los diferentes híbridos intraespecíficos evaluados.

No obstante lo anterior, si bien el corte a la semilla resultó interesante desde el punto de vista de la velocidad de germinación, los porcentajes finales de germinación no fueron tan altos, logrando como máximo un 68,87% en la especie *A. magnifica ssp. magnifica* y cerca de un 54% en *A. philippi*, correspondiente al segundo ensayo, por lo tanto es posible que las semillas de alstroemerias posean una latencia combinada, en donde interactúen inhibidores a nivel de la testa, genotipos y/o embriones morfológicamente inmaduros.

Por otro lado, King y Bridgen (1990), señalan que cuando los embriones inmaduros se dejan desarrollar por 8 a 12 semanas después de la cosecha, el óptimo de germinación ocurre al empapar las semillas durante 12 horas en agua destilada y cuando se exponen a 18-20°C durante 4 semanas. Asimismo, si las semillas tienen más de 12 semanas después de cosecha, requieren adicionalmente de 4 semanas a 7-10°C para romper la latencia. Sin embargo, las semillas de alstroemeria habrían tardado en promedio 18 días como mínimo en germinar bajo tales condiciones de alternancia frío-calor y en la presente investigación, las semillas de *A. magnifica ssp. magnifica* germinaron durante el período cálido, tardando en promedio 4,17 y 5,45 días, sin demostrar variaciones en el porcentaje final de germinación luego de ser sometidas a temperaturas más bajas en los tratamientos que contemplaron embriones expuestos, en las 5 especies evaluadas. Si se observó un aumento en el porcentaje de germinación en el tratamiento 4, sin embargo, tardó demasiado tiempo en germinar (Cuadro 3), por lo tanto, la aplicación de bajas temperaturas afectarían negativamente la velocidad de germinación en condiciones in vitro. Ciertamente, King y Bridgen (1990), reportaron que la mayoría de las semillas germinó antes del período frío. De 20 híbridos intraespecíficos de alstroemeria, 15 germinaron durante el período cálido.

Un aspecto importante de señalar es que las semillas de las especies evaluadas en esta investigación, provenían de distintas condiciones de almacenamiento. Por ejemplo, las especies *A. philippi* y *A. werdermannii* provenientes del Banco Base de Semillas fueron conservadas a -18°C, mientras que *A. magnifica ssp. magnifica*, *A. exserens* y *A. pulchra* estaban almacenadas a temperatura ambiente. Sin embargo, pese a que las condiciones de almacenamiento fueron distintas, la germinación no mostró variaciones.

La escarificación en tanto, mostró un efecto superior al testigo pero inferior a los tratamientos con embriones expuestos, en términos de porcentaje y velocidad de germinación. Las semillas que fueron escarificadas tardaron entre 3 a 4 veces más en germinar con respecto a las semillas que tenían sus embriones expuestos. No obstante, el

menor efecto que se observó pudo deberse a una cierta acidificación de las semillas producto del ácido sulfúrico y que con esto disminuyera el porcentaje final de germinación y su velocidad. Asimismo, King y Bridgen (1990), observaron que el porcentaje de germinación bajó fuertemente con la escarificación, sin embargo, esta disminución se debió a la presencia de patógenos, situación que puede eliminarse manteniendo un ambiente de germinación aséptico.

Comparando los tratamientos de escarificación, se aprecia que aquellas semillas que se sometieron a un período de frío, presentan un porcentaje de germinación final levemente superior al tratamiento que permaneció a 25°C durante las 8 semanas en *A. magnifica ssp. magnifica*, no obstante la diferencia es mínima y se evidencia que la estratificación no aumenta significativamente la germinación.

En el caso de *A. exserens*, *A. philippii*, *A. pulchra* y *A. werdermannii*, los porcentajes finales de germinación tampoco se incrementaron al someter las semillas a bajas temperaturas (Cuadro 4), lo que confirma lo encontrado en *A. magnifica ssp. magnifica* en el sentido que al realizarle un corte a la semilla se logra un mejor resultado en cuanto al porcentaje y velocidad de germinación. Esto queda de manifiesto al ver que los porcentajes finales de germinación de los tratamientos no presentan diferencia estadística significativa y, además, los valores no experimentaron un alza luego de someter las semillas a un período de frío en tales especies, coincidiendo con lo reportado por Acosta *et al.* (2004).

Cuadro 4. Porcentaje de germinación y días a germinación de las especies *A. werdermannii*, *A. philippii*, *A. pulchra* y *A. exserens* con corte de semillas y alternancia de temperatura.

Especie	Semilla	Temperatura (C°)	Días a Germinación	Porcentaje de Germinación (%)
<i>A. werdermannii</i>	Con corte	25 ¹	1,93 a	44,47 a
	Con corte	25/7 ²	1,48 a	42,20 a
<i>A. philippii</i>	Con corte	25	3,41 b	37,80 b
	Con corte	25/7	3,68 b	53,33 b
<i>A. pulchra</i>	Con corte	25	1,29 c	20,00 c
	Con corte	25/7	1,00 c	6,67 c
<i>A. exserens</i>	Con corte	25	4,53 d	46,67 d
	Con corte	25/7	4,79 d	51,13 d

Valores dentro de las columnas seguidos de una misma letra no resultaron estadísticamente diferentes a un nivel de confianza de $P < 0,05$, según comparación múltiple de medias. Test Tukey

¹ Semillas permanecieron a 25°C durante 8 semanas.

² Semillas a 25°C durante 4 semanas y a 7°C durante 4 semanas.

La especie *A. pulchra* registró la más rápida germinación tardando en promedio 1,00 y 1,29 días en germinar al realizarle un corte a las semillas. En segundo lugar, se encuentra la especie *A. werdermannii* que tardó 1,93 y 1,48 días en iguales condiciones que la anterior. Posteriormente se encuentran las especies *A. philippii* con 3,41 y 3,68 días, y *A. exserens*, con 4,53 y 4,79 días en germinar (Cuadro 4). Con estos datos, se deduce la existencia de una latencia física, ya que al romper el impedimento físico que tiene la semilla para

germinar, el proceso se agiliza. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que estas semillas en su medio natural requieren de un período cálido, con temperaturas similares a las exhibidas durante el verano en la región que habitan, para luego iniciar su establecimiento cuando las temperaturas son más bajas, lo que hace suponer además la existencia de una latencia producida por inhibidores a nivel de la testa, cuando el embrión ya ha alcanzado su madurez. Según la experiencia de King y Bridgen (1990), el embrión probablemente estaría maduro después de unas 12 semanas luego de cosechadas las semillas, por lo que todas las semillas utilizadas en esta investigación corresponderían a semillas maduras.

Aclimatación de plantas

El tratamiento de semilla escarificada que permaneció durante 4 semanas a 25°C y el tratamiento testigo no tuvieron aclimatación por superar el tiempo programado para el ensayo. Las plantas de los tratamientos no aclimatados, presentaron un aumento en la longitud del rizoma, sin embargo, no se observó organogénesis de brotes.

Los tratamientos de semilla con alternancia de temperatura 25/7°C obtuvieron en promedio una mayor altura de plantas, no obstante, esta mayor altura se debió a que las plantas que pasaron por temperaturas más bajas (7°C) sufrieron etiolación, pues fueron puestas en un refrigerador en oscuridad.

Dado que estas especies son silvestres y germinaron en forma paulatina, su crecimiento fue bastante desuniforme, por lo tanto, su aclimatación debió realizarse en forma escalonada.

CONCLUSIONES

Las semillas de alstroemeria presentan mayoritariamente latencia de tipo física, por lo que la germinación se ve altamente favorecida cuando se realiza un corte a la semilla tanto en velocidad como en porcentaje de germinación. En tanto que la escarificación con ácido sulfúrico retrasa la germinación y disminuye su porcentaje debido probablemente a una acidificación del medio circundante a la semilla.

La aplicación de un régimen frío luego de un período cálido, no incrementa el porcentaje final de germinación ni acelera el proceso en *A. exserens*, *A. philippi*, *A. pulchra* y *A. werdermannii*, por lo que la temperatura fría no sería un factor determinante en la ruptura de la latencia para estas especies, aún cuando los embriones ya habrían alcanzado su madurez. Para *A. magnifica ssp. magnifica*, la estratificación incrementa el porcentaje de germinación, no obstante, la velocidad de germinación es muy inferior con respecto a los tratamientos físicos aplicados a la semilla.

Las plantas de alstroemeria no exhiben diferencias en su posterior desarrollo con respecto a los pretratamientos utilizados a la semilla, más bien siguen un patrón de crecimiento otorgado por su germinación paulatina y por su variabilidad genética dado su origen silvestre.

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, M., Cortés, C., Rodríguez, L. y Mosquera, T. 2004. Influencia de algunos factores en la germinación e inducción floral de *Bomarea hispida*, Baker y *Bomarea patinii*. *Agronomía colombiana* 22 (2):128-139.
- Akutsu, M., and Sato, H. 2002. Induction of proembryos in liquid culture increases the efficiency of plant regeneration from *Alstroemeria* calli. *Plant Science*. 163: 475-479.
- Benoit, I. 1989. Red book on Chilean terrestrial flora (Part one). Min. Agric. Chile. 151 pp.
- Bridgen, M.; Olate, E. y Schiappacasse, F. 2002. Flowering Geophytes from Chile. *Acta Horticulturae*. 570: 75-78.
- Di Castri, F. y Hajek, E. Bioclimatología de Chile. Universidad de Católica de Chile, Santiago, Chile. 128p.
- García, F. 2005. Latencia de Yemas y Semillas.
Disponibile en: [http:// www.euita.upv.es/variados/biologia/Temas/tema_16.htm](http://www.euita.upv.es/variados/biologia/Temas/tema_16.htm). Leído el 4 de abril de 2005.
- Hartman, H., Kester, D., Davies, F. and Geneve, R. 1997. Plant propagation. Principles and practices. Sixth edition. Ed. Prentice Hall, New Jersey
- Hutchinson, M., Senaratna, J.M., Tsujita and Saxena, P. 2002. Somatic embryogenesis in liquid cultures of a tetraploid *Alstroemeria*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 47: 293-297.
- Figueroa, J. y Jaksic, F. 2004. Latencia y banco de semillas en plantas de la región mediterránea de Chile central. *Revista Chilena de Historia Natural*. 77: 201-215.
- Kim, J., De Jeu, M., Raemakers, K., Jacobsen, E. and Visser, R. 2001. In Vitro studies on callus induction in both vegetative and generative parts in *Alstroemeria* for further application to transformation. *Acta Hort* 560: 437-439.
- King, J. and Bridgen, M. 1990. Environmental and genotypic regulation of *Alstroemeria* seed germination. *HortScience*. 25(12): 1607-1609.
- Lin, H. S, De Jeu, M. and Jacobsen, E. 2000. The application of leafy explant micropropagation protocol in enhancing the multiplication efficiency of *Alstroemeria*. *Scientia Horticulturae* 85: 307-318.

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

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.

Squeo, F. y Arroyo, M. 2001. Presentación Científica del Libro Rojo de la Flora Nativa y de los sitios Prioritarios para su Conservación: Región de Coquimbo. pp.3-11. *In:* Squeo, F., Arancio, G. y Gutiérrez, J. (eds). Libro Rojo de la Flora Nativa y de los Sitios Prioritarios para su Conservación: Región de Coquimbo. Ediciones Universidad de La Serena. La Serena, Chile. 372p.

Thompson, P.A. and Newman, P. 1979. Germination of *Alstroemerias*. *The Garden* 104(2): 75-76.

Van Schaik, C.E, Van Der Toorn C., De Jeu, M., Raemakers, C. and Visser,R. 2000. Towards genetic transformation in the monocot *Alstroemeria* L. *Euphytica*. 115: 17-26.

ANEXO 1



Con formato



Con formato