



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

**EVALUACIÓN DE BARRERAS PRE-GERMINATIVAS EN LA PROPAGACIÓN
DE ALSTROEMERIAS A PARTIR DE SEMILLAS**

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de
Magister en Ciencias Agropecuarias Mención Producción de Cultivos

PAULINA VICTORIA BARRAZA GONZÁLEZ

Directores de Tesis
Danilo Aros Orellana
Ricardo Pertuzé Concha

Profesores consejeros
M. Loreto Prat del Rio
Claudio Pastenes Villarreal

SANTIAGO - CHILE
2015

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

**EVALUACIÓN DE BARRERAS PRE-GERMINATIVAS EN LA PROPAGACIÓN
DE ALSTROEMERIAS A PARTIR DE SEMILLAS**

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al Título Profesional de
Ingeniero Agrónomo y al Grado de Magíster en Ciencias Agropecuarias Mención
Producción de Cultivos.

PAULINA VICTORIA BARRAZA GONZÁLEZ

	Calificaciones (Memoria de Título)	Calificaciones (Tesis de Grado)
DIRECTOR DE TESIS		
Danilo Aros Orellana Ingeniero Agrónomo, Ph.D.	7.0	Aprobado
Ricardo Pertuzé Concha Ingeniero Agrónomo, Ph.D.	6.8	Aprobado
PROFESORES CONSEJEROS		
M. Loreto Prat del Rio Ingeniero Agrónomo, Mg. Sc.	7.0	Aprobado
Claudio Pastenes Villarreal Ingeniero Agrónomo, Ph.D.	6.5	Aprobado

Santiago, Chile
2015

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a mi familia, mis padres y abuelos que me formaron y educaron, gracias a eso soy quien soy hoy y he perseverado para llegar hasta aquí, gracias por su apoyo en lo económico, espiritual y emocional, por su constante oración y amor incondicional. A mi tío y hermanos por su preocupación y por entenderme en los buenos y no tan buenos momentos que se presentaron durante este proceso.

A mis amigos Luis, Camila y Victoria, por animarme, estar presentes en todas las etapas de este trabajo desde el principio hasta hoy, y entregarme siempre energía positiva. A Catalina por su gran ayuda en la parte estadística, a Manuel por acompañarme en los viajes a terreno y su papá por su colaboración en la construcción de instrumentos, y a todos aquellos que de una u otra forma aportaron a la realización de mi tesis; Aníbal, Adolfo, Carla, Fernanda.

A los profesores Mauricio Galleguillo por su ayuda en la obtención de datos climáticos y estadísticos, Álvaro Peña, Lali y Héctor del departamento de Agroindustria por su colaboración en la determinación fenológica y en la interpretación de los datos obtenidos. A mis profesores guías y consejeros Ricardo, Danilo y Loreto por su tiempo, conocimiento y orientar mis ideas en pos de mejorar este trabajo, especialmente a Ricardo por su preocupación y por presionarme para avanzar cuando en algún momento me empecé a estancar.

A la tía Jeannette y tía Mercedes por su inmenso cariño, demostrado en su preocupación tanto en el ámbito académico como en lo personal y por todos sus consejos. Y al tío Chamorro quién desde el primer año dentro de la universidad me brindó su apoyo y cariño.

Finalmente agradecer a Dios, quién puso a todas estas personas en mi camino, por ayudarme a superar todos los obstáculos y permitirme terminar este proceso de la mejor manera.

Gracias por acompañarme en mis logros y fracasos, y por celebrar conmigo mis alegrías.

INDICE

CAPÍTULO I	1
DORMANCIA COMO BARRERA EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE GEÓFITAS SILVESTRES	1
Revisión Bibliográfica	1
1. Dormancia	1
2. Dormancia en geófitas silvestres	2
3. Factores que afectan la dormancia	3
4. Profundidad de dormancia	4
5. Tipos de dormancia	5
6. Métodos de ruptura de dormancia	6
Literatura Citada	8
CAPÍTULO II	11
EVALUACIÓN DE BARRERAS PRE-GERMINATIVAS EN LA PROPAGACIÓN DE ALSTROEMERIAS A PARTIR DE SEMILLAS	11
1. Resumen	11
2. Abstract	12
3. Introducción	13
4. Hipótesis	16
5. Objetivos	16
5.1. Objetivo general	16
5.2. Objetivo específicos	16
6. Materiales y métodos	17
6.1. Ubicación del estudio	17
6.2. Material biológico	17
6.3. Diseño Experimental	17
6.4. Tratamientos	18
6.5. Metodología	18
6.6. Evaluaciones	19
6.7. Análisis Estadístico	22
7. Resultados y discusión	23
7.1. Identificación de especies del género <i>Alstroemeria</i> utilizadas en el ensayo	23
7.2. Caracterización morfológica de semillas de alstroemeria	28
7.3. Caracterización de fenoles solubles	32

7.4. Evaluación de métodos pre-germinativos _____	40
7.5 Asociación de la profundidad de la dormancia con la ubicación geográfica de 10 especies de Alstroemerias _____	47
8. Conclusiones _____	51
9. Literatura Citada _____	52
10. Apéndices _____	59

CAPÍTULO I

DORMANCIA COMO BARRERA EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE GEÓFITAS SILVESTRES

Revisión Bibliográfica

1. Dormancia

La propagación por semillas comprende la existencia de barreras pre-germinativas, conocida como dormancia. Baskin and Baskin (2004) definen la dormancia como semillas que no tienen la capacidad para germinar, en un período de tiempo, bajo factores físicos ambientales que en otras circunstancias serían favorables para la germinación. También está definido como el periodo entre la senescencia foliar y la brotación de la parte aérea de una especie vegetal (Phillips *et al.*, 2011).

Torada y Amano (2002) se refieren a este término como el cese del crecimiento visible de cualquier estructura vegetal que presente un meristemo, ya sea una yema, un ápice o un embrión.

La dormancia es un proceso progresivo, debido a que frecuentemente se presenta en diversos grados (Torada1 y Amano, 2002), e incluso para aumentar sus posibilidades de persistencia en el tiempo, las plantas tienen la capacidad de producir semillas con polimorfismo, produciendo dos o más tipos de semillas que le permiten escalonar la germinación de la población en el tiempo y evitar que germinen todas a la vez (Fernández y Johnston, 2006).

De esta forma, también actúa como regulador de la época del año en la cual las semillas pueden responder a estímulos ambientales (De Souza *et al.*, 2006), asegurando la sobrevivencia de las especies (Inácio *et al.*, 2013). Existen dos mecanismos que contribuyen a dicha sobrevivencia, las estrategias de dispersión y las de distribución de la germinación en el tiempo. Además de la dormancia, existen otras estrategias como la estabilidad de la población, índice de crecimiento, tamaño de la semilla (donde semillas grandes permiten su distribución en el espacio y las pequeñas en el tiempo) y la competencia contra predadores (De Souza *et al.*, 2006), debido a la presencia de fenoles (ácido ferúlico) que participan como disuasivos, disminuyendo la calidad del alimento (Ríos y Mangione, 2010).

2. Dormancia en geófitas silvestres

Otras estructuras que también presentan dormancia son los órganos de reserva subterráneos, como bulbos, tubérculos y rizomas, los cuales sirven para sobrevivir de una temporada a otra pasando por una estación con condiciones adversas (CCB, 2012). Estos órganos también permiten la reproducción vegetativa de estas especies obteniendo individuos de iguales características que la planta madre.

En los órganos subterráneos existen yemas vegetativas que le confieren a la planta la capacidad de persistir en el tiempo, y que en condiciones climáticas desfavorables, entran en estado dormante, almacenando reservas para el posterior crecimiento, de modo de poder sobrevivir a las condiciones adversas del medio (Phillips *et al.*, 2011).

Es por esto que en especies geófitas, la propagación por semillas no es muy común dado a la alta variabilidad en el porcentaje de germinación y porque requiere de un largo tiempo para que germine (King and Bridgen, 1990).

Las especies geófitas se caracterizan por presentar reproducción sexual y vegetativa, en donde ambas estructuras, semillas y órganos subterráneos, permanecen dormantes por un periodo de tiempo (Rees, 1992).

Para superar estas condiciones, están entre sus estrategias poseer una alta tasa fotosintética de modo de aprovechar al máximo los periodos de luz y conservar hojas después de la floración para acumular reservas y eliminarlas antes que aparezcan los frutos (Phillips *et al.*, 2011).

Se ha demostrado que la dormancia está inducida por señales ambientales como la temperatura y el fotoperiodo, provocando la detención del crecimiento aéreo de la planta en distintas estaciones, como por ejemplo en veranos muy largos y secos o por el contrario, en inviernos muy crudos y cubiertos de nieve. Como requisito para superar esta fase dormante de supervivencia a ambientes estacionales con condiciones tanto favorables como desfavorables, se tienen las mismas señales ambientales de temperatura y fotoperiodo, sugiriendo que la dormancia es una estrategia adaptativa que está correlacionada con el hábitat de la especie (Phillips *et al.*, 2011).

Sin embargo, Volaire y Norton (2006) plantean que las especies bulbosas presentan dormancia facultativa y obligada, esta última caracterizada por iniciar la fase latente a pesar de tener condiciones ambientales favorables para el crecimiento y que sería independiente del hábitat de la especie.

Por otro lado, las plantas geófitas no necesariamente producen flores todos los años, y con ello semillas, esto depende de la duración de la fase reproductiva que a su vez depende del genotipo y del ambiente (Phillips *et al.*, 2011). Sin embargo, cuando existe floración y producción de semillas, tampoco está la seguridad de que se produzca un nuevo individuo, ya que algunas especies también presentan dormancia en sus semillas.

3. Factores que afectan la dormancia

La dormancia en las semillas, según señala Schwienbacher *et al.* (2011), es un mecanismo innato determinado por propiedades tanto morfológicas como fisiológicas, mientras que la liberación de la dormancia se desencadena por estímulos ambientales. Por ello, este fenómeno es una característica que define las condiciones ambientales necesarias para la germinación de la semilla y, por lo tanto, las señales del medio (temperatura, humedad y luz) con las cuales se desarrolla una especie deben ser consideradas como posibles factores para romper este estado (Finch-Savage and Leubner-Metzger, 2006). Estos mismos autores señalan que existen diferencias en la respuesta a los factores ambientales, ya que algunos, como la temperatura, estarían influyendo en el freno de cambios estacionales, que en el tiempo estarían modificando la profundidad de la dormancia y la sensibilidad a otros factores. En cambio, otros factores indicarían de forma más inmediata a la semilla si las condiciones son las adecuadas para germinar y, por lo tanto, se podrían considerar para terminar la dormancia. Uno de estos factores sería la luz.

Al respecto, Ceccato *et al.* (2011) señalan que el ambiente en el que se desarrolla la semilla afecta los niveles y patrones de dormancia, siendo promovida por altas temperaturas y fotoperiodos largos.

Teniendo en cuenta que para superar esta fase dormante de supervivencia a ambientes estacionales, con condiciones tanto favorables como desfavorables, se requieren las mismas señales ambientales de temperatura y fotoperiodo, se cree que la dormancia es una estrategia adaptativa que está correlacionada con el hábitat de la especie (Phillips *et al.*, 2011). De esta manera, las condiciones para romper la dormancia van a variar con el lugar o región climática de origen de las especies, pudiendo permanecer estables o cambiar significativamente las características generales de la dormancia, incluso dentro de una misma familia, si es que la ubicación de origen abarca territorios muy amplios (Fernández y Johnston, 2006).

Figuroa y Jaksic (2004) consideran igualmente que la dormancia es una adaptación que evita que las plántulas germinen en condiciones inadecuadas para un establecimiento exitoso, sobreviviendo a largos periodos críticos. Esto estaría influido, además de los factores ambientales y el tiempo de almacenamiento después de la maduración de la semilla, por un numeroso grupo de genes, que le darían ciertas características restrictivas a la estructura de la cubierta de la semilla, especialmente de los tejidos que rodean al embrión y del potencial de crecimiento del mismo, es decir, de compuestos producidos por él o transmitidos de la planta madre, como las hormonas. Se ha podido establecer que inhibidores de la biosíntesis del ácido abscísico (ABA) promueven la germinación y, por lo tanto, su síntesis continua es la que mantiene la dormancia (Koornneef *et al.*, 2002).

El ácido abscísico producido por la semilla, durante el desarrollo de la misma, provoca una dormancia más prolongada, en comparación tanto a una aplicación externa de esta hormona, como si proviene de la planta madre. El alto contenido de ABA en semillas embebidas disminuye a medida que se rompe la dormancia, ya que ésta depende de la

relación ABA:GA, siendo el GA el que induce la germinación (Finch-Savage and Leubner-Metzger, 2006). Además, las giberelinas son conocidas por obviar las señales ambientales que requiere la semilla (Bewley and Black, 1994).

Otros compuestos que estarían involucrados en la germinación de las semillas son el ácido salicílico (SA), el cual a bajas concentraciones aumenta la actividad de las hidrolasas, que a su vez aumentan la descomposición de reservas e inician la germinación tempranamente (Shakirova *et al.*, 2003), y el nitrato de potasio (KNO_3) que influiría en la permeabilidad de las membranas (Preece and Read, 1993)

3.1. Fenoles

Otro inhibidor de la dormancia son las sustancias derivadas del metabolismo secundario de la planta, como los compuestos orgánicos aromáticos (fenólicos, benzoicos, cofactores de AIA oxidasa, difenólicos), o aquellas derivadas de las lactonas (cumarina, escopoletina, juglona). Particularmente, las semillas acumulan importantes cantidades de fenoles en sus cubiertas, que actúan como un filtro para que el oxígeno no llegue al embrión, inhibiendo su germinación. En contrapartida, estos compuestos captan hasta el 90% de las radiaciones UV, por lo que impiden los efectos nocivos de estas radiaciones en los tejidos internos de la planta (Palazón *et al.*, 2001).

Al ser los fenoles sustancias solubles en agua, en la naturaleza son lavados por las lluvias, quedando lejos de las semillas para que estas puedan germinar. No obstante, la germinación se ve retrasada, ya que los fenoles deben oxidarse ocupando gran parte del oxígeno (Fernández y Johnston 2006). En especies tropicales y subtropicales, estos inhibidores se encuentran en el pericarpio e inhiben la germinación en las estaciones secas, siendo la lixiviación de los frutos suficiente para que se inicie la germinación de las semillas. Tratamientos de remojo por 24 horas en agua a temperatura ambiente han sido útiles para semillas con poca resistencia a la germinación (Padilla, 1995).

Por otro lado, Valares (2011) señala que la síntesis de fenoles está influenciada por las condiciones ambientales, siendo estimulada por factores como la radiación UV, el estrés hídrico y el ozono, afectando su concentración o potenciando su actividad. Esta autora en una investigación realizada en *Cistus ladanifer*, observó que por efecto del estrés hídrico y la luz ultravioleta hubo un aumento en la síntesis de flavonoides, existiendo variaciones cuantitativas y cualitativas. Además, se ha demostrado que el exudado de esta especie inhibe su propia germinación y desarrollo de la semilla.

4. Profundidad de dormancia

El término profundidad de dormancia hace alusión al grado en que los mecanismos que inhiben dicho proceso afectan a la semilla. Dentro de la dormancia fisiológica, que será descrita más adelante, existen tres niveles de profundidad de dormancia: profunda, intermedia y no profunda. Estos niveles están basados en el patrón de cambio de los

requisitos de temperatura para la germinación durante el período de reposo. En la dormancia fisiológica profunda, las aplicaciones de ácido giberélico (GA) no promueven la germinación y las semillas requieren alrededor de tres a cuatro meses de estratificación en frío para germinar. En la dormancia intermedia, aplicaciones de GA promueven la germinación de algunas especies y las semillas requieren de dos a tres meses de estratificación en frío para superar la dormancia. Sin embargo, el almacenamiento en seco podría acortar el período de estratificación fría. Por último, en la dormancia no profunda, aplicaciones de GA promueven la germinación y tratamientos de escarificación y estratificación fría (0-10 ° C) o cálida (≥ 15 ° C), dependiendo de la especie, son efectivas para liberar la dormancia (Baskin and Baskin, 2004).

Para Fernández y Johnston (2006), la intensidad o profundidad de la dormancia es variable dependiendo del período de post maduración, frecuentemente en frío y ambiente húmedo, siendo 4°C durante cuatro semanas suficientes para degradar el ácido abscísico (ABA) presente en el embrión. En los casos de dormancia poco profunda también serían efectivas temperaturas un poco más cálidas.

5. Tipos de dormancia

Dependiendo del momento en que se produzca el bloqueo de la germinación se conocen dos tipos de dormancia: la primaria, que ocurre antes de la dispersión de la semilla y es inducida por la síntesis de ácido abscísico, durante la maduración de los órganos de dispersión de la planta madre; y la secundaria, que ocurre después que la semilla ha sido dispersada y puede ser inducida a semillas con dormancia fisiológica superficial. Además, la dormancia está relacionada con los ciclos anuales de dormancia del banco de semillas del suelo, por lo que si las condiciones ambientales desfavorables predominan, es posible que se pierda la dormancia primaria, dando lugar a la secundaria, si es que no existiesen las condiciones necesarias para inducir la germinación (Finch-Savage and Leubner-Metzger, 2006).

Baskin & Baskin (1998, 2004), han propuesto otra forma de clasificación, que consta de cinco tipos de dormancia y que es independiente de cuándo haya sido el momento en el que se produjo el bloqueo (Finch-Savage and Leubner-Metzger, 2006). La definición de estas clases de dormancia están basadas en atributos de la semilla como lo son la permeabilidad al agua de la cubierta seminal, la morfología del embrión y las respuestas fisiológicas a temperaturas (Zhou *et al.*, 2009).

5.1. Dormancia fisiológica

Es la dormancia más común encontrada en plantas superiores, en los bancos de semillas y en la mayoría de las especies modelos de investigación (*Arabidopsis thaliana*). Aquí el embrión se encuentra inmaduro y/o puede existir algún componente en la cubierta de la semilla y su interacción determina el grado de profundidad. Es posible distinguir tres niveles dentro de esta clase: dormancia profunda, intermedia y no profunda. En la primera

el embrión no crece, no produce plántulas normales, no se encuentra maduro y tratamientos con giberelina (GA) no son efectivos para superar la dormancia y son necesarios varios meses de estratificación con frío o calor para dar lugar a la germinación. La dormancia no profunda, la poseen la mayoría de las semillas y éstas sí son capaces de producir plántulas normales. Los tratamientos con GA son efectivos al igual que los tratamientos de escarificación y estratificación, dependiendo de la especie. En esta hay cinco clasificaciones más que tienen que ver con el rango de temperaturas a la cual se hace la estratificación y en donde la mayoría de la especies germinan cuando las temperaturas van de menor a mayor, aumentado gradualmente. Además al ir siendo liberada la dormancia, la sensibilidad a la luz y al GA va aumentando (Finch-Savage and Leubner-Metzger, 2006).

5.2. Dormancia morfológica

La dormancia morfológica es encontrada en semillas con embriones subdesarrollados en términos de tamaño, pero fisiológicamente se encuentran maduros (diferenciados) por lo que solo necesitan de un poco más de tiempo (Finch-Savage and Leubner-Metzger, 2006).

5.3. Dormancia morfofisiológica

Esta dormancia también tiene embriones subdesarrollados en cuanto a tamaño y además sus embriones están subdesarrollados fisiológicamente. Por lo tanto para romper esta dormancia es necesaria la combinación de tratamientos (Finch-Savage and Leubner-Metzger, 2006).

5.4. Dormancia física

Esta es provocada por una capa de células empalizadas, impermeable al agua, que cubren a la semilla y permite tener un control sobre el movimiento del agua (Finch-Savage and Leubner-Metzger, 2006). Esta es la dormancia más frecuente en especies leñosas nativas y llega a ser permeable en el tiempo con escarificación natural (Figueroa y Jaksic, 2004).

5.5. Dormancia combinada

En esta última hay presencia de una capa impermeable y además el embrión se encuentra inmaduro fisiológicamente (Finch-Savage and Leubner-Metzger, 2006).

6. Métodos de ruptura de dormancia

Para superar la dormancia y acelerar e incrementar el proceso de germinación de las semillas, la aplicación de tratamientos pre-germinativos son ampliamente utilizados (Sánchez *et al.*, 2011). Los métodos usados están basados en eliminar la barrera mecánica

de la semilla, ya sea el pericarpio o la testa, lo que es conocido como escarificación, así como en acelerar el periodo de maduración del embrión, lo que es llamado estratificación.

6.1. Escarificación

En la escarificación se considera la aplicación de ácido sulfúrico (H_2SO_4), el uso de enzimas, microflora u otros métodos mecánicos como la abrasión, siendo el principal efecto de estos tratamientos la destrucción de la cubierta seminal para permitir la imbibición de la semilla y el intercambio de gases (Zhou and Bao, 2011). Sin embargo, se ha visto experimentalmente que este tratamiento por sí sólo ha tenido poco éxito, por lo que es necesario combinarlo con otro (Zhou *et al.*, 2009). Las especies que deben ser escarificadas son las que presenten dormancia física (Figueroa y Jaksic, 2004).

6.2. Estratificación

La estratificación permite la maduración del embrión mediante el uso de ácido giberélico (GA) y la aplicación de temperatura, siendo el método que tiene mejores resultados y el más simple de realizar. Al igual que los métodos de escarificación, se obtiene mayor eficiencia en los resultados cuando se combinan tratamientos, temperatura con hormonas y calor-frío, lo que acortaría el tiempo de estratificación fría (Zhou and Bao, 2011).

El método de estratificación es efectivo cuando se presenta una dormancia fisiológica en las semillas. La acción de bajas temperaturas moviliza las reservas, reduciendo la dormancia y temperaturas elevadas activan la germinación inactivando inhibidores o alterando la respiración celular física (Figueroa y Jaksic, 2004), también podrían causar cambios en las concentraciones de enzimas o en la producción de las mismas (Bewley, J., 1997). Para Marassi (2013) temperaturas entre 10 °C y 18 °C son efectivas en casos en que el embrión no ha completado su desarrollo morfológico, y de 4 °C a 6 °C durante un periodo de tiempo que está correlacionado con el clima de la región de origen, cuando las semillas provienen de plantas de climas fríos o templados fríos. En cambio Taiz and Zeiger (2010) señalan temperaturas entre 0 °C y 10 °C, sin distinción.

Literatura Citada

- Baskin C. and J. Baskin. 1998. Seeds – ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. San Diego, CA, USA: Academic Press 666 p.
- Baskin J. and C. Baskin. 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research* 14 (1): 1–16.
- Baskin, J. and C. Baskin. 2004. Classification, biogeography, and phylogenetic relationships of seed dormancy. (cap. 28, pp. 517-544). En: Pritchard, H. (Ed.) Seed conservation: turning science into practice. Londres, Great Britain: The Royal Botanic Gardens of Kew. ii, 994 p.
- Bewley, J. and M. Black. 1994. Seeds: Physiology of Development and Germination. 2nd ed. New York, USA: Plenum Press.
- Bewley, J. 1997. Seed germination and dormancy. *Plant Cell* 9: 1055-1066.
- Centro de Conservación de la Biodiversidad (CCB). 2012. Rocallas de la Biodiversidad. Italia. [En línea]. Disponible en <http://www.ccb-sardegna.it/esp/roccaglie.html>. Consultado el 09 de noviembre de 2012.
- Ceccato, D.; D. Bertero and D. Batlla. 2011. Environmental control of dormancy in quinoa (*Chenopodium quinoa*) seeds: two potential genetic resources for pre-harvest sprouting tolerance. *Seed Science Research* 21 (2): 133-141.
- De Souza, M., F. Maria y M. Pérez. 2006. Soil seed Banks. *Agroscientia* 23 (1): 33-44.
- Fernández, G. y M. Johnston. 2006. Crecimiento y temperatura. (cap. 20, pp. 1-28). En: Squeo, F. and L. Cardemil. (Eds.). Fisiología Vegetal. La Serena, Chile: Universidad de La Serena. 374 p.
- Figueroa, J. y F. Jaksic. 2004. Latencia y banco de semillas en plantas de la región mediterránea de Chile central. *Revista Chilena de Historia Natural* 77: 201-215.
- Finch-Savage, W. and G. Leubner-Metzger. 2006. Seed dormancy and the control of Germination. *New Phytologist* 171 (3): 501–523.
- Inácio, M., R. Moraes, P. Mendonça, L. Morel, S. França, B. Bertoni, A. Pereira. 2013. Phenolic Compounds Influence Seed Dormancy of *Palicourea rigida* H.B.K. (Rubiaceae), a Medicinal Plant of the Brazilian Savannah. *American Journal of Plant Sciences* 4: 129-133.
- King, J and M. Bridgen. 1990. Environmental and genotypic regulation of *Alstroemeria*, seed germination. *HortScience* 25 (12): 1607-1609.

Koornneef, M.; L. Bentsink and H. Hilhorst. 2002. Seed dormancy and germination. *Current Opinion in Plant Biology* 5: 33–36.

Padilla, M. 1995. Tratamientos pre-germinativos. (pp.1-6). En: Curso regional sobre recolección y procesamiento de semillas forestales (13-21 de febrero, Centro agronómico tropical y enseñanza. Proyecto semillas forestales). Turrialba, Costa Rica. 187 p.

Palazón, J.; R. Cusidó y C. Morales. 2001. Metabolismo y significación biológica de los polifenoles del vino. *ACE Revista de Enología*. [en línea]. Barcelona, España: Rubes Editorial. Recuperado en: http://www.acenologia.com/ciencia55_2.htm. Consultado el 20 de diciembre de 2013.

Phillips, N.; D. Drost; W. Varga and L. Shultz. 2011. Demography, reproduction, and dormancy along altitudinal gradients in three intermountain *Allium* species with contrasting abundance and distribution. *Flora- Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 206 (2): 164–171.

Preece, J. and P. Read. 1993. Mineral Nutrition In: The biology of Horticulture crop. 2nd ed., Jhon Wiley and Sons Publisher, 257-259 p.

Rees, W. 1992. Ecological footprints and appropriated carrying capacity: what urban economics leaves out. *Environment and Urbanization* 4 (2): 121-130.

Ríos, J., y A. Mangione, 2010. Respuesta disuasiva del granívoro *Zonotrichia capensis* (Paseriformes: Emberizidae) frente a fenoles comunes en las semillas. *Ecología Austral* 20: 215-221.

Sánchez, J.; J. Reino; B. Muñoz; Y. González y L. Montejo. 2011. Combined effect of scarification and temperature on the germination of herbaceous legume seeds. *Pastos y Forrajes* 34 (2): 179–184.

Shakirova, F., A. Sakhabutdinova, M. Bezrukova, R. Fatkhutdinova, and D. Fatkhutdinova. 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Science* 164: 317-22.

Schwienbacher, E., J. Navarro-Cano, G. Neuner and B. Erschbamer. 2011. Seed dormancy in alpine species. *Flora- Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 206 (10): 845– 856.

Taiz, L. and E. Zeiger. 2010. Types of Seed Dormancy and the Roles of Environmental Factors. *Plant Physiology* 23:18. [en línea]. Recuperado en: <http://www.plantphys.net>. Consultado el 16 de noviembre de 2013.

Torada1, A. and Y. Amano. 2002. Effect of seed coat color on seed dormancy in different environments. *Euphytica* 126: 99–105.

Valares, C. 2011. Variación del metabolismo secundario en plantas debida al genotipo y al ambiente. Tesis Doctoral. Badajoz, España. Departamento de Biología Vegetal, Ecología y Ciencias de la Tierra, Universidad de Extremadura. 216 h.

Volaire, F. and M. Norton. 2006. Summer dormancy in perennial temperate grasses. *Annals of Botany* 98 (5): 927–933.

Zhou, Z; W. Bao and N. Wu. 2009. Dormancy and germination in *Rosa multibracteata* Hemsl. & E. H. Wilson. *Scientia Horticulturae* 119 (4): 434–441.

Zhou, Z. and W. Bao. 2011. Levels of physiological dormancy and methods for improving seed germination of four rose species. *Scientia Horticulturae* 129 (4): 818–824.

CAPÍTULO II

EVALUACIÓN DE BARRERAS PRE-GERMINATIVAS EN LA PROPAGACIÓN DE ALSTROEMERIAS A PARTIR DE SEMILLAS

1. Resumen

El género *Alstroemeria* tiene su origen en América del Sur y Chile es uno de los países que reúne el mayor número de taxones (49), de los cuales 40 son endémicos. Sin embargo, factores antrópicos y ambientales están afectando la sobrevivencia de estas especies, por lo que es de gran importancia la conservación de la variabilidad genética, lo que se logra mediante la propagación por semillas. Las semillas normalmente presentan dormancia, que impediría su germinación en condiciones favorables, por lo que el objetivo de este trabajo fue desarrollar un protocolo de propagación para semillas de alstroemerias nativas y determinar el mejor método para romper la dormancia.

Se utilizaron semillas de 10 especies de alstroemeria nativas de Chile, recolectadas desde la Región de Coquimbo a la Región del Maule y se evaluaron cinco condiciones pre-germinativas combinando escarificación y estratificación. El ensayo constó de dos etapas: la primera consideró la recolección de semillas las cuales fueron caracterizadas, evaluando además viabilidad y la presencia de fenoles. En la segunda etapa se evaluó la respuesta a los tratamientos pre-germinativos.

Los resultados mostraron un efecto positivo y significativo en el porcentaje de germinación al combinar el lavado de semillas y la estratificación fría a 13 °C, obteniéndose los mejores resultados en *A. pelegrina* y *A. angustifolia* (98,3% y 91,7% respectivamente) a los 30 días. Además, se pudo apreciar distintas profundidades de dormancia en cada especie de alstroemeria, sin embargo, no fue posible asociarlas a la ubicación geográfica de origen.

Palabras claves: dormancia, estratificación, escarificación, fenoles.

2. Abstract

The genus *Alstroemeria* has its origin in South America and Chile is one of the countries showing the highest number of taxa (49), from which 40 are endemic. However, anthropogenic and environmental factors are affecting the survival rate of these species, therefore, is of great importance the conservation of the genetic variability, which can be achieved through seed propagation. Seeds normally show dormancy, which prevents their germination under favorable conditions, thus the objective of this work was to develop a seed propagation protocol for native alstroemerias and to determine the best method to break the dormancy.

Seeds from 10 alstroemerias native to Chile were collected, from Coquimbo Region to Maule Region, and five pre-germination treatments combine with scarifications and stratifications were evaluated. The essay was carried out in two stages: the first considered the seed collection, and phenotyping, also evaluating viability and phenols presence. During the second stage the response to the pre-germination treatments was evaluated.

The results showed a positive and significant effect on the percentage of germination by combined with seed washing and cold stratification at 13 °C, obtaining the best results in *A. pelegrina* and *A. angustifolia* (98.3% and 91.7% respectively) after 30 days. In addition different depths of dormancy were observed in each species of alstroemeria, although it was not possible to associate them to the geographic location of origin.

Keywords: dormancy, stratification, scarification, phenols.

3. Introducción

El género *Alstroemeria* fue descrito por Linneo en la segunda mitad del siglo XVIII y su nombre fue dedicado a su pupilo y amigo Claus Alstroemer, considerando como base tres especies descritas originalmente por Luis Feuillée, en 1714. Este género tiene su origen en América del Sur y es estrictamente de esta región, abarcando desde Venezuela (3°N) hasta Tierra del Fuego (53°S). En este territorio han sido descritos un total de 109 taxones, siendo Chile y Brasil los principales centros de diversidad, al contar con la mayor cantidad de taxones y la mayor cantidad de especies endémicas (Muñoz y Moreira, 2003).

La descripción de estos taxones y clasificación de especies en el género *Alstroemeria* está basada en la caracterización morfológica de flores, tallos, hojas, frutos y rizomas (Bayer, 1987). *Alstroemeria* sp. es una planta herbácea, perenne, con rizomas cilíndricos simples o ramificados; con raíces delgadas, blancas, carnosas; cuenta con tallo aéreo erecto, a veces decumbente; presenta hojas alternas, separadas o agrupadas en rosetas, de borde y forma variada; con inflorescencia terminal, las flores son zigomorfas con tépalos libres, de seis estambres y ovario ínfero y presentan protandria, es decir, al momento de estar el polen maduro el estilo aún no se ha desarrollado completamente (Muñoz y Moreira, 2003). Por ello es una especie de polinización cruzada, lo que trae como consecuencia una alta variabilidad en la progenie. En la naturaleza la polinización se lleva a cabo por insectos, especialmente himenópteros (Cavieres *et al.*, 1998). El fruto es una cápsula con dehiscencia explosiva o violenta, lo que hace que las semillas contenidas dentro de él se dispersen lejos de la planta (Muñoz y Moreira, 2003).

Cerca del 45% del total de taxones descritos se encuentra en Chile, lo que equivale a 49 especies, de las cuales 40 son endémicas. Recientemente se validó la especie *A. párvula* Phil. que antes había sido considerada, por Bayer (1987), como sinónimo de *A. umbellata* Meyen (Muñoz *et al.*, 2011).

Todas las especies endémicas se distribuyen a lo largo y ancho del país, siendo *A. violacea* Phil. la encontrada más al norte del territorio nacional, específicamente en el sur de Iquique (20°20'S). *A. patagonica* Phil. es la que presenta la ubicación más austral, cerca de Tierra del Fuego (52°45'S). Según altitud, las especies que marcan los límites inferior y superior son *A. pelegrina* L., que habita de 0 a 50 msnm., mientras que *A. spathulata* Presl habita desde los 2.200 a 3.100 msnm. A pesar de la alta urbanización que exhibe la Zona Central de Chile (regiones Metropolitana y Quinta) es aquí donde se concentra el mayor número de taxones, encontrándose 14 especies (Muñoz y Moreira, 2003), debido a que es uno de los principales centros de biodiversidad, característica que se debe a la influencia del clima mediterráneo que presenta el país (Pardini, 2007), marcado por veranos calurosos y secos e inviernos fríos y lluviosos.

Sin embargo, desde el punto de vista de su conservación, las 40 especies endémicas son consideradas vulnerables. Factores tales como el crecimiento demográfico, al aumento de las zonas urbanas, el cambio en el uso de suelos para cultivos productivos y ganadería así como el inminente cambio climático, como consecuencia del calentamiento global, han

provocado la transformación de hábitats que llevará a una potencial disminución, sustitución de las poblaciones vegetales (Lauenroth *et al.*, 2004) e incluso, la posible extinción de algunas especies.

Es por esto que la conservación de esta especie adquiera relevancia para mantener dicha diversidad y riqueza vegetal en los ecosistemas. La conservación de material vegetal supone el mantenimiento de las poblaciones, ya sea *in situ* (en el lugar de donde provienen) o *ex situ* (fuera de su hábitat natural), al considerar que estos materiales son potencialmente útiles para su uso y manejo actual y futuro (Mayor *et al.*, 2002).

Para conservar las especies se requiere conocer y estudiar la propagación de las mismas, debido a que ello permite desarrollar planes de protección de zonas amenazadas por desertificación, erosión, pastoreo y urbanización, entre otros factores (Squeo y Arroyo, 2001). Sin embargo, no todas las opciones de propagación son útiles para realizar un banco de germoplasma, ya que la reproducción vegetativa no cumple con los fines de conservación, debido a que es un método invasivo y que origina individuos clones, por lo que no permite conservar la variabilidad genética de poblaciones y especies. Por lo anterior, el método adecuado para la conservación de material genético es la propagación por semillas, aunque este método también presenta una desventaja, pues comprende la existencia de barreras pre-germinativas, conocida como dormancia. Baskin and Baskin (2004) definen la dormancia como semillas que no tienen la capacidad para germinar, en un período de tiempo, bajo factores físicos ambientales que en otras circunstancias serían favorables para la germinación.

Teniendo en cuenta que para superar esta fase dormante de supervivencia a ambientes estacionales, con condiciones tanto favorables como desfavorables, se requieren las mismas señales ambientales de temperatura y fotoperiodo, se cree que la dormancia es una estrategia adaptativa que está correlacionada con el hábitat de la especie (Phillips, *et al.*, 2011). De esta manera, las condiciones para romper la dormancia van a variar con el lugar o región climática de origen de las especies, pudiendo permanecer estables o cambiar significativamente las características generales de la dormancia, incluso dentro de una misma familia, si es que la ubicación de origen abarca territorios muy amplios (Fernández y Johnston, 2006).

Baskin and Baskin (1998, 2004) han propuesto una clasificación que consta de cinco tipos de dormancia. La definición de estas clases de dormancia están basadas en los atributos de la semilla: la permeabilidad al agua de la cubierta seminal, la morfología del embrión y las respuestas fisiológicas a temperaturas (Zhou *et al.*, 2009).

Dormancia fisiológica (PD): se caracteriza por presentar un embrión inmaduro y/o por la existencia de algún componente en la cubierta de la semilla, cuya interacción determina el grado de profundidad de la dormancia.

Dormancia morfológica (MD): se encuentra en semillas con embriones de tamaño subdesarrollados, pero fisiológicamente maduros (diferenciados) por lo que solo necesitan de un poco más de tiempo.

Dormancia morfofisiológica (MPD): presenta embriones subdesarrollados tanto en su tamaño como fisiológicamente.

Dormancia física (PY): se produce por una capa de células empalizadas, impermeable al agua, que cubre a la semilla y permite un control sobre el movimiento del agua.

Dormancia combinada (PY + PD): presenta una capa impermeable y, además, el embrión se encuentra fisiológicamente inmaduro (Finch-Savage and Leubner-Metzger, 2006).

Para superar la dormancia y acelerar e incrementar el proceso de germinación de las semillas, la aplicación de tratamientos pre-germinativos son ampliamente utilizados (Sánchez *et al.*, 2011). Los métodos usados están basados en eliminar la barrera mecánica de la semilla, ya sea el pericarpio o la testa, lo que es conocido como escarificación, así como en acelerar el periodo de maduración del embrión, lo que es llamado estratificación. En la escarificación se considera la aplicación de ácido sulfúrico (H_2SO_4), el uso de enzimas, microflora u otros métodos mecánicos como la abrasión, siendo el principal efecto de estos tratamientos la destrucción de la cubierta seminal para permitir la imbibición de la semilla y el intercambio de gases (Zhou and Bao, 2011). Sin embargo, se ha visto experimentalmente que este tratamiento por sí sólo ha tenido poco éxito, por lo que es necesario combinarlo con otro (Zhou *et al.*, 2009). Las especies que deben ser escarificadas son las que presenten dormancia física (Figueroa y Jaksic, 2004).

El caso de la propagación de alstroemeria por semillas no es muy común, debido a la alta variabilidad en el porcentaje de germinación y por requerir de un largo periodo para que germine (King and Bridgen, 1990). Algunos autores han planteado que las semillas tendrían una dormancia de tipo embrionario, que impediría su germinación incluso bajo condiciones favorables (García, 2005; Hartman *et al.*, 1997). Para otros, las semillas tendrían una dormancia física impuesta en mayor medida por la testa (Machuca, 2006).

Los principales trabajos en propagación de alstroemeria corresponden a cultivos in vitro sobre rizomas, óvulos, anteras, tépalos (Lin *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 2001) y en embriones (Machuca, 2006), mientras que los pocos que se han realizado en germinación de semillas no han llegado a un consenso acerca del tipo de dormancia que posee esta especie y, por lo tanto, tampoco se ha definido la mejor forma de romperla.

4. Hipótesis

Especies nativas chilenas del género *Alstroemeria* presentan dormancia fisiológica, la cual se expresa con distintas profundidades, de acuerdo al origen de cada especie.

5. Objetivos

5.1. Objetivo general

Analizar la profundidad de la dormancia en especies nativas del género *Alstroemeria* de distinto origen geográfico.

5.2. Objetivo específicos

Identificar y georreferenciar especies del género *Alstroemeria*.

Realizar una caracterización morfológica y de fenoles solubles en agua en semillas de 10 especies de alstroemerias.

Evaluar métodos pre-germinativos para superar dormancia en semillas de 10 especies de alstroemerias.

Asociar la profundidad de la dormancia con la ubicación geográfica de 10 especies de alstroemerias.

6. Materiales y métodos

6.1. Ubicación del estudio

Se realizaron campañas de recolección de semillas de especies de alstroemerias en Chile, entre la Región de Coquimbo y la Región del Maule, durante la temporada 2012/2013 en las fechas estimadas de floración de las especies de alstroemerias según información obtenida por bibliografía. Los análisis y mediciones se llevaron a cabo en distintos laboratorios e invernaderos de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, ubicada en la Región Metropolitana.

6.2. Material biológico

Se utilizaron semillas de especies nativas de alstroemerias que estuviesen distribuidas entre la Región de Coquimbo y la del Maule de Chile, de acuerdo al Cuadro 1, las que fueron recolectadas de tres zonas de origen (Costa, Valle Central y Cordillera), dependiendo de su época de floración, según Muñoz y Moreira (2003).

Cuadro 1. Lista de especies de alstroemerias utilizadas en este estudio indicando su distribución y fecha estimada de floración.

Especie	Distribución	Latitud	Fecha estimada floración
<i>A. magnifica</i> ssp. <i>magenta</i>	P.N. Fray Jorge-Norte de Papudo	30°39'S-32°21'S	Sept-Nov
<i>A. pelegrina</i>	Norte Los Vilos-Sur Valparaíso	31°49'S-33°09'S	Oct-Nov
<i>A. pulchra</i> var. <i>maxima</i>	Cerro Pan de Azúcar-Cuesta Lo Prado	29°59'S-33°28'S	Sept-Dic
<i>A. pulchra</i> ssp. <i>pulchra</i>	Mauro_Hacienda Mercedes	32°00'S-35°04'S	Oct-Nov
<i>A. angustifolia</i> var. <i>angustifolia</i>	Río Torca (Limari)-Coya (Cachapoal)	31°05'S-34°12'S	Oct-Ene
<i>A. umbellata</i>	Valle de San Fco.-Sewell (Cachapoal)	33°15'S-33°04'S	Dic-Feb
<i>A. pallida</i>	Juncal, Los Andes-curso sup Río Maipo	32°50'S-34°10'S	Nov-Mar
<i>A. hookeri</i> ssp. <i>maculata</i>	Norte Los Vilos	31°50'S	Octubre
<i>A. pseudospathulata</i>	R.N. Siete Tazas-cerro El Peine	35°26'S-33°37'S	Ene-Feb
<i>A. ligtu</i> ssp. <i>simsii</i>	Cerro Caquis-Pichilemu	32°35'S-34°24'S	Nov-Ene

6.3. Diseño Experimental

Este ensayo se realizó en un diseño de parcelas divididas con estructura factorial de 10 x 6 (especies de alstroemerias y condiciones pre-germinativas) con tres repeticiones. La parcela principal correspondió a las especies de alstroemerias y la subparcela a la condición pre-germinativa. La unidad experimental consistió en veinte semillas.

6.4. Tratamientos

La realización del ensayo contempló 60 tratamientos, compuestos por dos factores: especies de alstroemerias, se utilizaron 10 especies nativas chilenas, y condiciones pre-germinativas, en las cuales se trabajó con cinco condiciones para romper dormancia, más la condición siembra directa que equivale al testigo (Cuadro 2).

Cuadro 2. Especies de alstroemerias y condiciones pre-germinativas utilizadas para romper la dormancia.

Especies	Condiciones Pre-germinativas
<i>A. magnifica</i> ssp. <i>magenta</i>	Siembra directa (SD)
<i>A. pelegrina</i>	Lavado de semillas (LS)
<i>A. pulchra</i> var. <i>maxima</i>	Lavado de semillas-Frío 1° C (LF1°)
<i>A. pulchra</i> ssp. <i>pulchra</i>	Lavado de semillas-Frío 13° C (LF13°)
<i>A. angustifolia</i> var. <i>angustifolia</i>	Frío 1° C (F1°)
<i>A. umbellata</i>	Frío 13° C (F13°)
<i>A. pallida</i>	
<i>A. hookeri</i> ssp. <i>maculata</i>	
<i>A. pseudospathulata</i>	
<i>A. ligtu</i> ssp. <i>simsii</i>	

6.5. Metodología

Para el establecimiento de este ensayo se procedió en dos etapas. Durante la primera se recolectaron y caracterizaron las especies de alstroemerias (Cuadro 1) y en la segunda etapa se estableció el ensayo de pre-germinación, con semillas de las especies colectadas.

6.5.1. Colecta de semillas e identificación de especies

Se realizaron campañas de recolección de semillas de alstroemerias entre las zonas indicadas para cada especie del Cuadro 1, que constó de dos fases. La primera de ellas se hizo en la época de floración, para poder identificar las especies con la clave taxonómica correspondiente a la monografía de Bayer (1987). Luego, se marcaron con un GPS los puntos donde se encontraron las plantas y las flores polinizadas cuando el gineceo se encontraba trifido y además, fueron encerradas en bolsas de muselinas para evitar su posterior dispersión. La segunda campaña se llevó a cabo aproximadamente dos meses después, de modo de poder asegurar que los frutos estuvieran secos y las semillas estuvieran maduras. En este viaje, y siguiendo los puntos marcados con el GPS, se recolectaron todas las bolsas puestas en la campaña anterior. Las semillas fueron agrupadas por especie y etiquetadas con su respectivo nombre científico, fecha y lugar de recolección. Posteriormente, estas semillas fueron registradas en fichas técnicas con datos como la

identificación de la planta, localización, material recolectado, temperaturas y precipitaciones medias del lugar.

6.5.2. Siembra

Las semillas se sembraron en bandejas de almácigo de 286 alvéolos (18 cm³) a una profundidad de 1 cm, utilizando turba. Se mantuvieron en invernadero hasta su establecimiento, definido como una plántula con dos hojas extendidas.

6.6. Evaluaciones

6.6.1. Variables medidas en etapa de colecta y caracterización de especies

Se realizó una caracterización morfológica, la cual consistió en una evaluación visual de la forma y tamaño de las semillas de alstroemerias, así como una caracterización química, que consistió en un análisis cualitativo y cuantitativo de fenoles solubles en agua, para determinar su existencia en la semilla, que pudieran estar influyendo en la dormancia. Además, las semillas se pesaron y se efectuó un test de viabilidad mediante la prueba de tetrazolio.

Masa de semillas (g/100 semillas): en el laboratorio de semillas se pesaron 100 semillas al azar en tres ocasiones obteniéndose un promedio de la masa de 100 semillas. Para esto se utilizó una balanza (Snug III, Jadever, Taiwán). Se utilizaron valores con dos decimales. Al mismo tiempo, se obtuvo el número estimado de semillas por especie, a partir de la masa del total de semillas recolectas y la masa de 100 semillas. Para esto, se multiplicó el valor de la masa de total de semillas por 100 (semillas masadas), y se dividió por el valor de la masa de 100 semillas. El dato fue utilizado para tener saber con cuanto material vegetal se disponía para realizar el experimento.

Viabilidad de semillas (%): se calculó el porcentaje de semillas viables con el test de viabilidad de tetrazolio, con la finalidad de corregir los resultados finales de los tratamientos, disminuyendo el error al decir que la no emergencia o tardanza de las semillas para emerger se debe a la dormancia y no a que éstas no son viables. El test de tetrazolio se hizo al 0,5% preparando una solución de 0,5 g de tetrazolio en 100 ml de agua destilada. Las semillas sometidas al test se dejaron en un papel húmedo durante 18 horas para su humidificación, posteriormente se cortaron longitudinalmente y se puso una de las mitades en un frasco negro con la solución de tetrazolio. Los frascos se mantuvieron a 25°C por 24 horas. Luego se observaron las semillas. En caso que aún no existía tinción se mantuvieron en esta solución por 24 horas más. Finalmente, las semillas fueron enjugadas para su posterior evaluación y análisis. El protocolo de esta prueba se obtuvo del Manual de ensayos al tetrazolio (Moore, 1985).

Forma: se realizó una descripción visual de la forma y textura de veinte semillas tomadas al azar, de las distintas especies de alstroemerias, las cuales se clasificaron en redondas o

angulares y lisas o rugosas, de acuerdo a un criterio de clasificación de elaboración propia. Se clasificaron en redondas, cuando las semillas no presentaron caras planas, y en angulares cuando las semillas presentaron caras planas o al menos un ángulo. En cuanto a la textura, se definió como rugosas a aquellas semillas que presentaron protuberancias en su superficie y lisas a aquellas que no presentaron dicha condición (Figura 1).

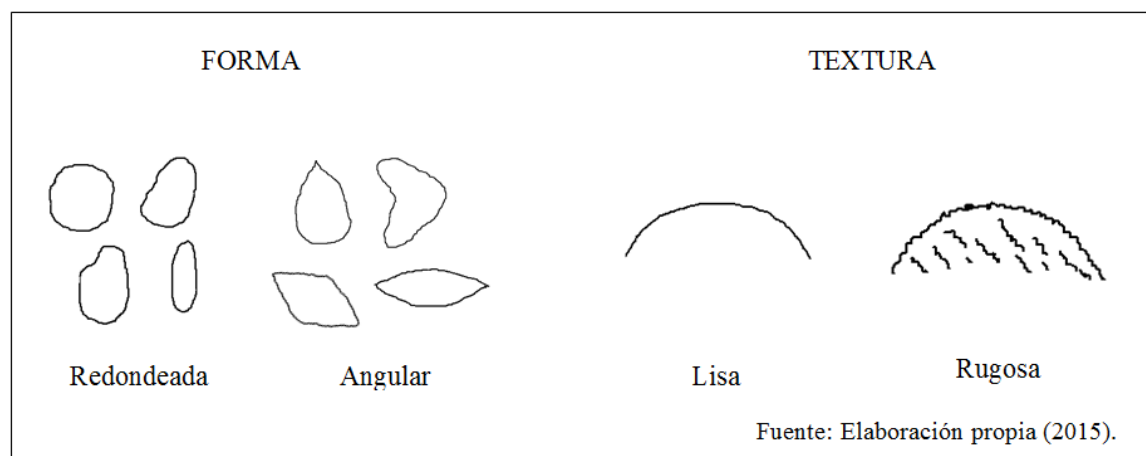


Figura 1. Criterio de clasificación de forma y textura elaborado para semillas de alstroemeria.

Tamaño (mm): se midieron 10 semillas al azar en tres repeticiones obteniéndose un promedio del diámetro, considerando la parte más ancha de las semillas. Para esto se utilizó un pie de metro digital (Mitoty Measuring Instrument, China). Se utilizaron valores con dos decimales.

Compuestos fenólicos: se efectuó una cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) en el Laboratorio de Cromatografía del Departamento de Agroindustria y Enología, con el fin de determinar y cuantificar el contenido de fenoles totales y compuestos fenólicos de bajo peso molecular, presentes en la superficie de la semilla, tales como ácidos hidroxibenzoicos, ácidos hidroxicinámicos, estilbenos, alcoholes fenólicos y flavonoles. Para esto se tomó 100 mL de la solución de hidratación de las semillas de alstroemerias por 4 horas en agitación. A esa solución acuosa se le hicieron extracciones con éter etílico (3 x 10 mL de éter etílico) y acetato de etilo (3x 10 mL acetato de etilo). Los extractos de éter (3) y acetato (3) combinados se eliminaron con sulfato sódico anhidro por 30 mL. Después de 30 minutos se filtró para dejar en el filtro la sal y el extracto filtrado se llevó a sequedad en rota vapor, nunca pasando los 35°C dentro de un matraz corazón. Una vez que quedó seca la muestra, ésta se redisolvió en 1 mL de una solución de agua/metanol (1:1, v:v) y se filtró por un filtro de 0,45 micras (um), para finalmente inyectar 40 uL en el equipo de HPLC-DAD (cromatógrafo de líquidos acoplado a un detector de fotodiodos alineados marca Agilent technologies 1200 series).

6.6.2. Variables medidas en etapa ensayo pre-germinativo

Se realizaron dos condiciones pre-germinativas para posteriormente evaluar su respuesta a la germinación (escarificación y estratificación). La escarificación, consistió en el lavado de las semillas mediante un sistema de agua que circulaba constantemente, sin acumularse, con un flujo aproximado de $0,024 \text{ L}\cdot\text{s}^{-1}$, durante tres días. Esto se logró con un recipiente cilíndrico, con una entrada y una salida de agua que se mantuvo en movimiento gracias a un aspa movilizadora por un motor. Las semillas estuvieron en bolsas de muselina para evitar que se mezclaran las especies. En la estratificación fría, existieron dos niveles de estratificación. En uno las semillas fueron almacenadas a 1°C y en otro a 13°C , durante cuatro semanas (Fernández y Johnston, 2006). Estas temperaturas se lograron en cámaras de frío, facilitadas por el laboratorio de postcosecha de la Facultad. Las semillas estuvieron dentro de bolsas herméticas.

Las variables medidas en esta etapa fueron

Emergencia de semillas (%): se evaluó diariamente y de forma visual la emergencia de las semillas, considerando como semilla germinada la aparición del cotiledón junto con el epicotilo sobre el sustrato, registrándose el porcentaje de plántulas emergidas.

Tiempo de emergencia (días): se evaluó el tiempo en que las semillas demoraron entre la siembra y la emergencia.

Velocidad de germinación: fue expresado como la germinación diaria media máxima, y calculado con el porcentaje acumulado de germinación de semilla (germinación máxima alcanzada al final del ensayo) dividido por el número de días transcurridos desde la fecha de siembra que se alcanza dicho porcentaje, en cualquier momento del periodo del ensayo (Willan, 1991).

6.7. Análisis Estadístico

Los datos fueron evaluados con un Análisis de Varianza (ANDEVA) mediante el programa Infostat versión estudiantil y Ri386 versión 2.15.2. Al existir diferencias significativas se realizó la prueba de comparación múltiple DGC con un nivel de significancia de un 5%. Cuando se presentaron interacciones se procedió a analizar la totalidad de las interacciones en forma conjunta.

Al no cumplirse los supuestos que exige el ANDEVA, los resultados fueron analizados utilizando el Modelo Lineal Mixto (MLM).

Se realizaron regresiones entre las variables morfológicas de las semillas de peso y diámetro, utilizando las medias ajustadas y una matriz de correlación para identificar las variables relacionadas de mayor importancia, para luego identificar con ellas la existencia de asociaciones entre las características morfológicas de la semilla y las especies de alstroemerias, así como entre la profundidad de la dormancia y las especies de alstroemerias. La matriz de correlación fue obtenida con el programa R Project, versión 3.1 (R Core Team, 2014).

7. Resultados y discusión

7.1. Identificación de especies del género *Alstroemeria* utilizadas en el ensayo

Para este estudio de evaluación de barreras pre-germinativas para la propagación de alstroemeria a través de semillas, se utilizaron 10 especies nativas de Chile (Figura 2), distribuidas entre la IV Región de Coquimbo y la VII Región del Maule. Estas especies fueron identificadas y georreferenciadas antes de realizar la colecta de semillas.

A continuación se detallan los datos de recolección y una breve descripción de cada una de las 10 especies utilizadas en esta investigación.

Nombre científico: *Alstroemeria magnifica* ssp. *magenta* (Bayer) M. Muñoz

Fecha de recolección: 19 de Diciembre de 2012

Material vegetal recolectado: Semillas

Lugar de recolección: Los Vilos

Altitud: 7 msnm.

Latitud: S 31°53.071'; W 71°30.137'

Descripción de planta: De hasta 80 cm de alto, tallo erecto, hojas espiraladas y lanceoladas que disminuyen su tamaño y se distancian a lo largo del tallo. Inflorescencia de 1 a 3 rayos. Tépalos violáceos, los externos grandes y con mucrón en el ápice; los superiores internos son ovados y con un mucrón más pequeño, franja amarilla intensa en la mitad superior y líneas rojo-vinosas que se afinan hacia la base. Tépalos inferiores internos de menor tamaño. Anteras violáceas. Habita en roqueríos y lomajes costeros (Muñoz y Moreira, 2003).

Descripción del lugar: Los Vilos tiene una temperatura media anual es de 17 °C, siendo de 27 °C la temperatura máxima en el mes más cálido y 8,1 °C la mínima en el mes más frío. La precipitación anual alcanza los 210 mm (Worldclim, 2015).

Nombre científico: *Alstroemeria pelegrina* L.

Fecha de recolección: 19 de Diciembre de 2012

Material vegetal recolectado: Semillas

Lugar de recolección: Los Vilos

Altitud: 8 msnm.

Latitud: S 31°53.092'; W 71°30.188'

Descripción de planta: De hasta 60 cm de alto, tallo decumbente o rastroso con abundantes hojas que se caracterizan por ser espiraladas con la punta vuelta hacia un lado y brillantes. Inflorescencia de 1 a 3 rayos. Tépalos rosados con una mancha purpúrea en la parte media, los externos son anchos, ovados, escotados en el ápice y terminados en un mucrón verdoso. Los superiores internos son más angostos con una franja amarilla pálido en el medio y con líneas rosadas-purpúreas. Tépalos inferiores un poco más largo que los superiores y anteras purpúreas. Habita en los acantilados costeros (Muñoz y Moreira, 2003).

Descripción del lugar: Los Vilos tiene una temperatura media anual es de 17 °C, siendo de 27 °C la temperatura máxima en el mes más cálido y 8,1 °C la mínima en el mes más frío. La precipitación anual alcanza los 210 mm (Worldclim, 2015).



Figura 2. Fotografía de las diez especies nativas chilenas de *Alstroemeria* utilizadas en este estudio, en estado de floración.

Nombre científico: *Alstroemeria hookeri* ssp. *maculata* Bayer

Fecha de recolección: 6 de Marzo de 2013

Material vegetal recolectado: Semillas

Lugar de recolección: Los Vilos

Altitud: 17 msnm.

Latitud: S 31°53.145'; W 71°30.089'

Descripción de planta: Baja, de hasta 50 cm de alto, casi sin hojas al momento de floración, pero de existir son glabras y grisáceas. Inflorescencia de 3 a 5 rayos. Tépalos pequeños, obovados, terminados en un mucrón, los internos son más angostos que los externos y de ellos los superiores presentan una mancha amarilla muy leve y líneas pupúreas gruesas, que también están presentes en tépalo interior inferior. Habita en planicies costeras de suelos arenoso-arcillosos (Muñoz y Moreira, 2003).

Descripción del lugar: Los Vilos tiene una temperatura media anual es de 17 °C, siendo de 27 °C la temperatura máxima en el mes más cálido y 8,1 °C la mínima en el mes más frío. La precipitación anual alcanza los 210 mm (Worldclim, 2015).

Nombre científico: *Alstroemeria pulchra* var. *maxima* Phil.

Fecha de recolección: 12 de Enero de 2013

Material vegetal recolectado: Semillas

Lugar de recolección: Rinconada de Maipú

Altitud: 664 msnm.

Latitud: S 33°29.822'; W 70°54.521'

Descripción de planta: De hasta 110 cm de alto, muy vigorosa, tallo erecto y hojas lanceoladas. Inflorescencia de 3 a 12 rayos de gran longitud. Tépalos grandes aunque levemente menor a *Alstroemeria pelegrina*, de color blanco a lila intenso. Los externos presentan el ápice escotado y con mucrón ancho, los internos superiores presentan una franja amarilla en el tercio superior con líneas púrpuras. Habita en cerros, quebradas y llanos soleados (Muñoz y Moreira, 2003).

Descripción del lugar: En Rinconada de Maipú la temperatura media anual es de 13,3 °C, donde la máxima en el mes más cálido es de 27,7 °C y de 2,2 °C la mínima en el mes más frío. La precipitación anual alcanza los 452 mm (Worldclim, 2015).

Nombre científico: *Alstroemeria ligtu* ssp. *simsii* (Sprengel) Bayer

Fecha de recolección: 12 de Enero de 2013

Material vegetal recolectado: Semillas

Lugar de recolección: Rinconada de Maipú

Altitud: 557 msnm.

Latitud: S 33°29.648'; W 70°53.823'

Descripción de planta: Puede llegar a medir más de 100 cm de alto, vigorosa, de hojas lanceoladas. Inflorescencia de 3 a 12 rayos de gran longitud. Tépalos de tamaño medio, de color amarillo a rojo pasando por el naranja, los tépalos externos son más cortos que los interiores superiores, y en estos últimos se presenta la franja amarilla y sobre ella las líneas anaranjadas. Habita en cerros asoleado, de costa a cordillera (Muñoz y Moreira, 2003).

Descripción del lugar: Para esta especie se obtuvieron datos de temperatura media anual de 13,9 °C, temperatura máxima en el mes más cálido de 28,5 °C, temperatura mínima en el mes más frío de 2,5 °C y precipitación anual de 406 mm (Worldclim, 2015).

Nombre científico: *Alstroemeria pulchra* Sim ssp. *pulchra*

Fecha de recolección: 12 de Enero de 2013

Material vegetal recolectado: Semillas

Lugar de recolección: Rinconada de Maipú

Altitud: 682 msnm.

Latitud: S 33°29.808'; W 70°54.597'

Descripción de planta: De hasta 100 cm de alto, tallo erecto con hojas lanceoladas y agudas. Inflorescencia de 3 a 8 rayos de gran longitud. Tépalos obovados de menor tamaño que *A. pulchra* var. *maxima* de color blanca, lila o jaspeadas, borde denticulado y terminado en un mucrón ancho y largo de color verde o atropupúreo. Tépalos internos inferior de igual forma que los exteriores pero de menor tamaño y los superiores son angostos y más largos que los tépalos externos, presentando un mucrón corto y una franja amarilla en el tercio superior con líneas púrpuras. Habita en cerros y llanos asoleados (Muñoz y Moreira, 2003).

Descripción del lugar: En Rinconada de Maipú la temperatura media anual es de 13,3 °C, donde la máxima en el mes más cálido es de 27,7 °C y de 2,2 °C la mínima en el mes más frío. La precipitación anual alcanza los 452 mm (Worldclim, 2015).

Nombre científico: *Alstroemeria angustifolia* Herbert var. *angustifolia*

Fecha de recolección: 9 de Marzo de 2013

Material vegetal recolectado: Semillas

Lugar de recolección: Monumento Nacional El Morado

Altitud: 2216 msnm.

Latitud: S 33°48.426'; W 70°04.235'

Descripción de planta: De hasta 85 cm de alto, tallo erecto con hojas grisáceas, agudas y retorcidas. Inflorescencia de 2 a 7 rayos, tépalos externos de tamaño medio, apiculados, de color blanco a rosado intenso. Los internos superiores son más angostos, con una franja amarillo pálido y con líneas en la superficie, y el inferior es como los externos, pero más corto. Habita en cerros asoleados de la costa, interior y pre cordillera andina (Muñoz y Moreira, 2003).

Descripción del lugar: En el sitio donde se obtuvo esta especie, la precipitación anual asciende a 620 mm, la temperatura media anual a 8,4 °C, alcanzando los 22,7 °C en el mes más cálido y -3,2 °C en el mes más frío (Worldclim, 2015).

Nombre científico: *Alstroemeria umbellata* Meyen

Fecha de recolección: 12 de Marzo de 2013

Material vegetal recolectado: Semillas

Lugar de recolección: Farellones

Altitud: 2739 msnm.

Latitud: S 33°21.635'; W 70°15.377'

Descripción de planta: Puede medir de 8 a 30 cm de alto. Hojas dispuestas en rosetas lanceoladas u obovadas, grisáceas y algo carnosas. Inflorescencia de 2 a 7 rayos, tépalos de color rosado pálido a intenso, recurvos, obovados, adelgazados hacia la base, el ápice escotado con mucrón ancho y oscuro. Los tépalos internos superiores son oblanceolados, de ápice agudo, con una franja amarilla en el medio y líneas pupúreas, y el inferior un poco más ancho y corto que los superiores. Habita suelos de cascajos de cordillera (Muñoz y Moreira, 2003).

Descripción del lugar: En este sitio de recolección la precipitación anual es de 490 mm y la temperatura media anual es de 5,5 °C. La temperatura máxima en el mes más cálido y la mínima en el mes más frío, es de 18,9 °C y -5,4 °C respectivamente (Worldclim, 2015).

Nombre científico: *Alstroemeria pallida* Graham

Fecha de recolección: 12 de Marzo de 2013

Material vegetal recolectado: Semillas

Lugar de recolección: Farellones

Altitud: 2547 msnm.

Latitud: S 33°20.804'; W 70°18.207'

Descripción de planta: De hasta 60 cm de alto, hojas torcidas. Inflorescencia de 2 a 5 rayos, tépalos abiertos, los externos levemente escotados con mucrón corto, los internos superiores son oblanceolados, agudos, con una franja amarilla en el medio y líneas pupúreas, y el inferior es un poco más ancho. Habita en suelos pedregosos de la cordillera (Muñoz y Moreira, 2003).

Descripción del lugar: Los datos climáticos obtenidos para esta especie fueron temperatura media anual de 7,1 °C, temperatura máxima en el mes más cálido de 20,7 °C, la mínima en el mes más frío de -3,7 °C y la precipitación anual es de 491 mm (Worldclim, 2015).

Nombre científico: *Alstroemeria pseudospathulata* Bayer

Fecha de recolección: 26 de Marzo de 2013

Material vegetal recolectado: Semillas

Lugar de recolección: Piedra Blanca, Talca

Altitud: 1880 msnm.

Latitud: S 35°37.283'; W 71°02.720'

Descripción de planta: De hasta 30 cm de alto, hojas dispuestas en roseta, grisáceas, carnosas y sésiles. Inflorescencias de 1 a 4 rayos. Tépalos levemente abiertos con mucrones cortos, de color amarillo y bordes superiores vueltos hacia arriba. Los tépalos internos son oblanceolados o apiculados, angostos y los superiores presentan líneas rojizas. Habita en suelos franco-arenosos de la cordillera (Muñoz y Moreira, 2003).

Descripción del lugar: *A. pseudospathulata* es la especie que se encuentra en la localidad con mayor precipitación anual (963 mm) de las especies recolectadas. En Piedra Blanca la temperatura media anual es de 6,6 °C, siendo de 21,8 °C la temperatura máxima en el mes más cálido y -4 °C la mínima en el mes más frío (Worldclim, 2015).

7.2. Caracterización morfológica de semillas de alstroemeria

La caracterización morfológica de las semillas se realizó mediante la evaluación de tres variables, dos de ellas cuantitativas y una cualitativa. La primera variable cuantitativa evaluada, fue el peso de las semillas de las distintas especies, en donde existieron diferencias estadísticamente significativas, siendo la de menor peso *A. magnifica* ssp. *magenta* (0,9 g / 100 sem) y la de mayor peso *A. ligtu* ssp. *simsii* (3,12 g / 100 sem), como se muestra en el Cuadro 3.

El diámetro de la parte más ancha de las semillas fue la segunda variable cuantitativa evaluada, en donde también existieron diferencias estadísticamente significativas. Entre las especies de menor tamaño se encontraron *A. pulchra* ssp. *pulchra* y *A. magnifica* ssp. *magenta*, con 2,19 y 2,29 mm, respectivamente. La de mayor tamaño fue *A. pelegrina*, registrando un diámetro de 3,43 mm.

Cuadro 3. Valores de peso y diámetro de semilla de diez especies de *Alstroemeria*.

Especie	Masa 100 sem (g)		Diámetro (mm)	
<i>A. ligtu</i> ssp. <i>simsii</i>	3,12	A*	3,27	B
<i>A. umbellata</i>	2,99	B	3,22	B
<i>A. pelegrina</i>	2,64	C	3,43	A
<i>A. pseudospathulata</i>	2,17	D	2,95	C
<i>A. angustifolia</i> var. <i>angustifolia</i>	1,86	E	2,94	C
<i>A. pallida</i>	1,72	F	2,63	D
<i>A. pulchra</i> var. <i>maxima</i>	1,68	F	2,84	C
<i>A. hookeri</i> ssp. <i>maculata</i>	1,28	G	2,47	E
<i>A. pulchra</i> ssp. <i>pulchra</i>	0,99	H	2,18	F
<i>A. magnifica</i> ssp. <i>magenta</i>	0,9	I	2,29	F

(*) Letras distintas en sentido vertical representan diferencias significativas de acuerdo al test de DGC ($p \leq 0,05$).

Por otro lado, es posible apreciar que el peso de la semilla no es una variable que esté asociada a la ubicación geográfica de la especie, ya que entre las dos más livianas una pertenece al litoral costero del norte de la cuarta región (10 msnm) y la segunda es del Valle Central de la Región Metropolitana (500 msnm). Así mismo, entre las tres especies de mayor peso se encuentra una especie de la costa, una de la cordillera y una del valle.

Los valores obtenidos, concuerdan con los registrados por Muñoz y Moreira (2003), quienes indicaron dimensiones de semillas similares para *A. ligtu* ssp. *simsii* (2,8 a 3,2 mm), *A. pseudospathulata* Bayer (3 mm), *A. pallida* Graham (2,8 a 3 mm), *A. umbellata* Meyen (3 a 4 mm), *A. angustifolia* var. *angustifolia* (2 mm), *A. pulchra* ssp. *pulchra* (1,8 a 2 mm), *A. pelegrina* (2,8 a 3 mm) y *A. magnifica* ssp. *magenta* (1,8 a 2,2 mm).

El diámetro de las semillas se correlaciona con el peso de las mismas, observándose que semillas de mayor tamaño son a su vez, semillas de mayor peso y semillas de menor tamaño tienen menor peso, por lo que dichas variables se encuentran correlacionadas, existiendo una relación directa y significativa entre ellas (Figura 3).

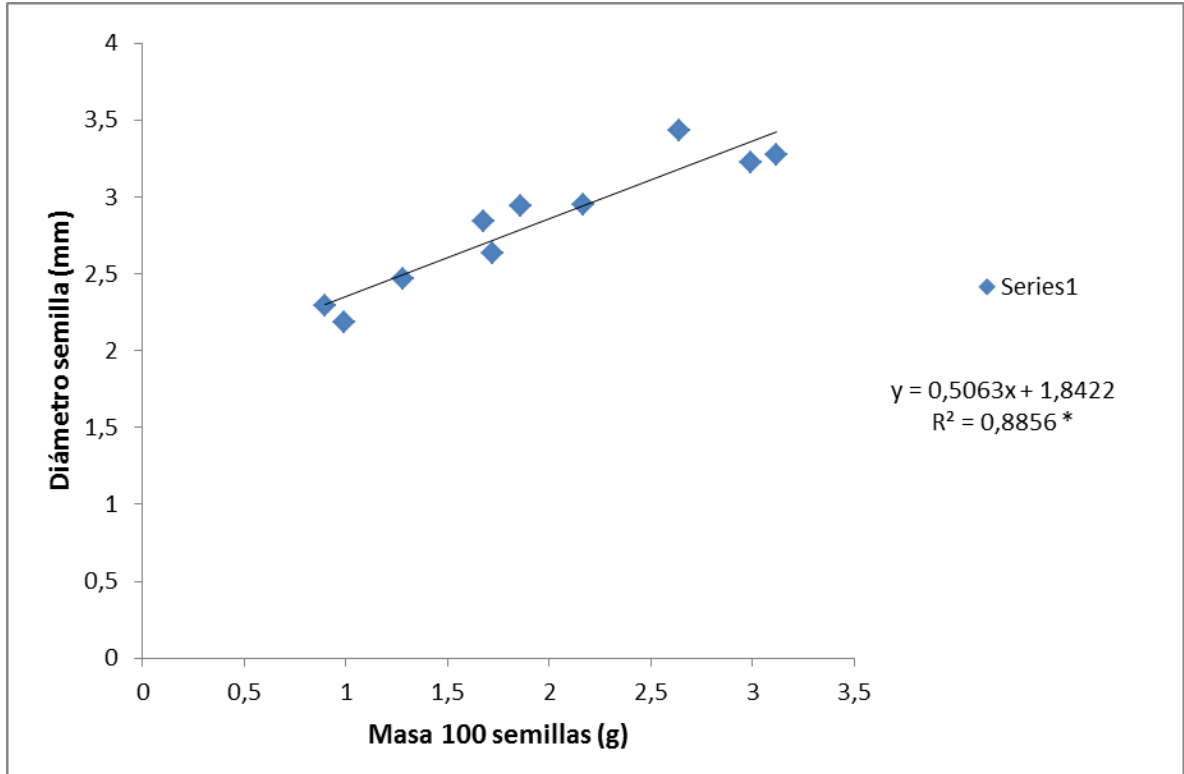


Figura 3. Regresión entre la masa de 100 semillas y el diámetro de las mismas en diez especies de Alstroemerias (* = $p \leq 0,0001$).

Si bien no se tomaron datos del número de semillas por fruto, se observó que el tamaño de la semilla no tenía relación con dicho parámetro, ya que al momento de la recolección, los frutos con menor número de semillas fueron los de la especie *A. magnifica* ssp. *magenta* con alrededor de tres semillas/fruto, que a su vez es la especie de menor diámetro. Por otro lado, *A. ligtu* ssp. *simsii* se podían encontrar 20 semillas/fruto e incluso 30 semillas/fruto en especies como *A. pulchra* var. *maxima*. Al respecto, Cruz (2013) sugiere que la productividad de las plantas se ve afectada por el tamaño de las mismas, es decir, que el vigor tiene directa relación con el número de semillas producidas. También señala que la producción de materia seca y por lo tanto el rendimiento, dependen de la disponibilidad de agua durante la etapa de floración y del rango de temperatura durante el crecimiento de la planta. Peñaloza (2001) agrega a estas dos variables la salinidad indicándolos como factores de estrés que durante el desarrollo reproductivo afectan la calidad de la semilla. De manera que sería interesante evaluar en una próxima investigación, ciertas características de la planta madre, para ver la existencia de asociación entre el tamaño de semilla y vigor en especies de alstroemeria.

A su vez, semillas de mayor tamaño producen plantas más vigorosas, con mayor área foliar, peso seco y altura, y por ende, una menor pérdida en la etapa de emergencia, debido a la

mayor cantidad de reservas (Peñaloza, 2001). Esto indica que la dimensión de las semillas refleja las condiciones de establecimiento de las plántulas, y que el tener más reservas supone cierta ventaja sobre otras semillas de menor tamaño, viéndose favorecida por ejemplo, en hábitats con suelos pobres en nutrientes si es que la disponibilidad de éstos aumentase con la profundidad (Rees, 1996).

Lokesha *et al.* (1992), señalan que las reservas de las semillas de mayor masa contienen una mayor proporción de proteínas o carbohidratos. Por el contrario, semillas pequeñas contienen una mayor cantidad de grasa y eso le permitiría reducir su tamaño manteniendo el contenido de energía, debido a que las grasas contienen más energía por unidad de masa que las otras fuentes energéticas. Sin embargo, estas semillas pueden presentar menor longevidad debido a la susceptibilidad a la peroxidación lipídica en semillas secas (Ponquett *et al.*, 1992). Esto sugeriría que *A. pulchra* ssp. *pulchra* y *A. magnifica* ssp. *magenta* podrían tener los resultados más bajos al evaluar su germinación, con respecto al resto de las especies, debido a que sus semillas son las de menor tamaño y según lo expuesto anteriormente la calidad de las reservas sería menor, lo que implicaría a su vez, una menor viabilidad. En este sentido, y por lo datos obtenidos mediante la prueba de tetrazolio para evaluar dicho parámetro, se encontró que esta variable está correlacionada positivamente con el tamaño de las semillas, donde efectivamente semillas más pequeñas tienen menor viabilidad que las semillas más grandes, a excepción de *A. pseudospathulata*, sin embargo, esta correlación no fue significativa (Apéndice 10.6.2).

Existe cierta evidencia de que las semillas que son dispersadas por el viento, contienen una mayor proporción de grasa que las semillas que son dispersadas pasivamente o dispersadas por animales (Lokesha *et al.*, 1992). Igualmente, se podría esperar que plantas perennes o plantas que presenten reproducción clonal produjeran semillas pequeñas, puesto que su energía sería destinada en su mayoría a las reservas del crecimiento vegetativo (Rees, 1996), sin embargo, esto es contradictorio si se toma en cuenta que para la síntesis de reserva de lípidos, se requiere de más energía que para producir proteínas o carbohidratos (Ponquett *et al.*, 1992). En el caso del género *Alstroemeria* que presenta reproducción vegetativa y dispersión pasiva, el tamaño de las semillas de las especies evaluadas, varía en 2,22 mm entre la más pequeña y la más grande, siendo esta diferencia significativa, por lo que en esta especie el tamaño no estaría influenciado ni por la forma de dispersión ni de reproducción.

La amplia diversidad de masa y tamaño observadas, puede deberse según Rees (1996) a que las condiciones de establecimiento varían enormemente dentro de las comunidades. Así ocurre con *A. pelegrina*, *A. hookeri* ssp. *maculata* y *A. magnifica* ssp. *magenta*, que aun perteneciendo a la misma localidad, presentan diferencias significativas en sus pesos y diámetros. Estas diferencias pueden estar dadas no solo a nivel de comunidad, por las poblaciones que la componen, sino también a nivel ecosistémico, integrando componentes abióticos, como el suelo y el agua, que van a estar interactuando con los componentes bióticos (Tansley 1935), y que junto con la exposición Norte o Sur en la que se encuentren las poblaciones, provocan cambios en la temperatura y humedad, afectando directamente las condiciones de desarrollo de la planta madre. Suelos de textura fina podrían permanecer húmedos durante más tiempo que un suelo de textura gruesa, donde el agua escurre rápidamente (Shaver *et al.*, 2002) y como consecuencia presenta mayor temperatura,

pudiendo generar un ambiente de estrés en la planta, y como se ha mencionado anteriormente afectar la calidad de la semilla.

Por otro lado, dada la gran cantidad de reservas que le permiten a las semillas de mayor diámetro establecerse en ambientes relativamente desfavorables, se cree que éstas poseen un menor nivel de dormancia (Rees, 1993; Rees, 1996). En este sentido, Cruz (2013) encontró correlaciones positivas, aunque no significativas, entre la germinación total y el tamaño y peso de semillas de *Physaria*. Asimismo, Jurado y Flores (2005) señalan que poblaciones con semillas más grandes tienen, efectivamente, fracciones de germinación más elevadas que las con semillas más pequeñas.

Cruz (2013) atribuye a un efecto del medio ambiente en el que se desarrolla la planta madre, los cambios de tamaño y masa de la semilla. Dichos cambios, afectarían la asignación de recursos o la proporción de semillas germinadas para evitar la competencia por algún recurso limitado, como el agua.

Todos estos antecedentes podrían llevar a pensar que, en especies del género *Alstroemeria* las reservas de las semillas pequeñas podrían corresponder a lípidos, pero que no existiría relación entre el tamaño de la semilla y la reproducción clonal, ni el método de dispersión. Además, con los datos de tamaño de flor reportados por Muñoz y Moreira (2003) y los de diámetro de semilla obtenidos en esta investigación, se realizó una regresión que aunque no fue significativa, no relacionó ambas variables. Para poder establecer fehacientemente si existe relación entre el vigor de la planta, el tamaño de la flor y el tamaño de la semilla, y si está influenciado por factores como el suelo o la exposición tendrían que evaluarse dichas variables en un próximo estudio.

En cuanto a la caracterización de la forma de las semillas, es posible apreciar visualmente, que de las especies de alstroemerias recolectadas en esta investigación, *A. ligtu* ssp. *simsii* fue la única de forma angular, presentando dos caras planas y un ángulo prácticamente recto. Las nueve especies restantes presentaron forma redondeada (Figura 3). Respecto a la textura, entre las semillas de testa lisa se encontró *A. umbellata*, *A. pseudospathulata* y *A. pelegrina*, y de testa rugosas *A. pallida*, *A. angustifolia* var. *angustifolia*, *A. ligtu* ssp. *simsii*, *A. magnifica* ssp. *magenta*, *A. pulchra* ssp. *pulchra*, *A. pulchra* var. *maxima* y *A. hookeri* ssp. *maculata*, siendo estas dos últimas las que presentaron protuberancias más notorias (Figura 4).

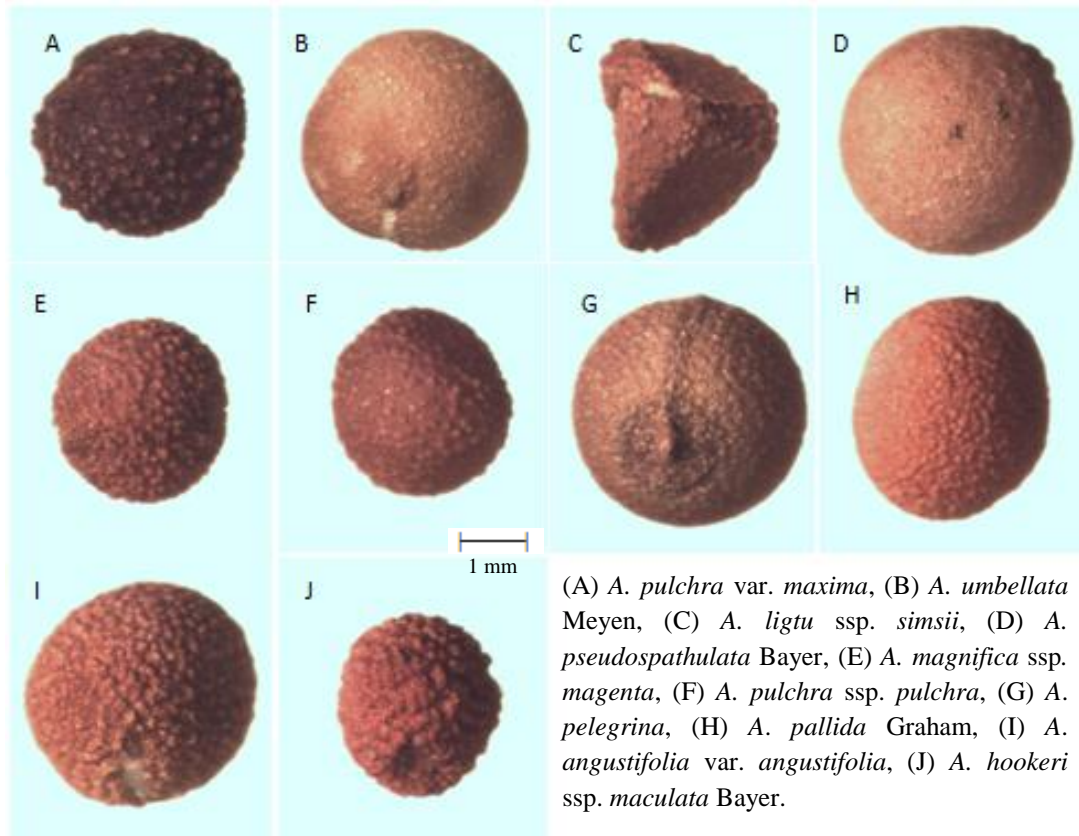


Figura 4. Fotografía de semillas de las diez especies de alstroemerias recolectadas en este estudio.

Por otra parte, en la Figura 4, se puede apreciar que existen diferencias en el cuanto al color que exhiben las semillas, y de acuerdo a Torada y Amano (2002) este es un atributo que está relacionado con la dormancia y que varía de acuerdo al medio ambiente durante el cual se desarrolla la semilla. En su estudio de semillas de trigo, la cubierta roja permitía mantener los niveles de dormancia en ambientes húmedos, no así en condiciones secas en donde no hubo diferencia en la dormancia de trigos blanco y rojos. Watanabe y Ikebata, (2000) también sugieren que el color tendría efecto en la mantención de la dormancia en dichas especie de trigo, siendo las semillas oscuras más dormante que las semillas claras.

7.3. Caracterización de fenoles solubles

La presencia de compuestos fenólicos se determinó mediante espectrofotómetro, a seis especies de alstroemerias. Con ello se determinó la concentración de fenoles totales (expresado en ácido gálico), taninos totales y antocianos. Para este último, el análisis se realizó solo a una especie debido a la escasez de material vegetal.

Aunque no se realizaron análisis estadísticos para determinar la existencia de diferencias significativas en la cantidad de fenoles y taninos presentes en estas especies, los resultados que se muestran en el Cuadro 4, indican que la cantidad de fenoles totales varía entre 2,44 y

4,71 mg·g⁻¹ de semilla. También se puede distinguir que la concentración de taninos tiene una mayor variación con respecto a la de fenoles, siendo las más baja de 1,30 mg·g⁻¹ de semilla en *A. angustifolia* var. *angustifolia* y la más alta de 30,95 mg·g⁻¹ de semillas en *A. hookeri* ssp. *maculata*.

Cuadro 4. Concentración de fenoles y taninos totales de seis especies de alstroemeria, y antocianos totales de la especie *A. ligtu* ssp. *simsii*.

Especie	Polifenoles totales	Fenoles mg·g ⁻¹ semilla	Taninos mg·g ⁻¹ semilla	Antocianos mg·g ⁻¹ semilla
<i>A. hookeri</i> ssp. <i>maculata</i>		4,71	30,95	-
<i>A. angustifolia</i> var. <i>angustifolia</i>		3,37	1,30	-
<i>A. pulchra</i> var. <i>máxima</i>		3,49	ND	-
<i>A. pelegrina</i>		3,53	13,12	-
<i>A. umbellata</i>		3,12	12,90	-
<i>A. ligtu</i> ssp. <i>simsii</i>		2,44	11,09	0,056

ND: no detectado a la escala del método utilizado.

(-): dato no medido.

Los cromatogramas realizados con el HPLC (Figura 5), permiten separar los distintos fenoles de bajo peso molecular, y se pudo observar perfiles similares entre algunas especies como *A. pulchra* var. *maxima* y *A. ligtu* ssp. *simsii*, especies pertenecientes a Rinconada de Maipú y donde también se podría incluir en este grupo a *A. umbellata*, que tiene un leve peak en el minuto 60, a diferencia de las otras dos. Lo mismo ocurre con *A. angustifolia* var. *angustifolia* y *A. pelegrina*, ambas con peak de gran magnitud cerca del minuto 60, sin embargo, estas dos especies habitan lugares muy distintos (M.N. El Morado y Los Vilos, respectivamente). *A. hookeri* ssp. *maculata* exhibió dos peak notorios, al minuto 8 y 53 aproximadamente, pero su perfil no fue parecido a ningún otro de las especies analizadas en esta investigación.

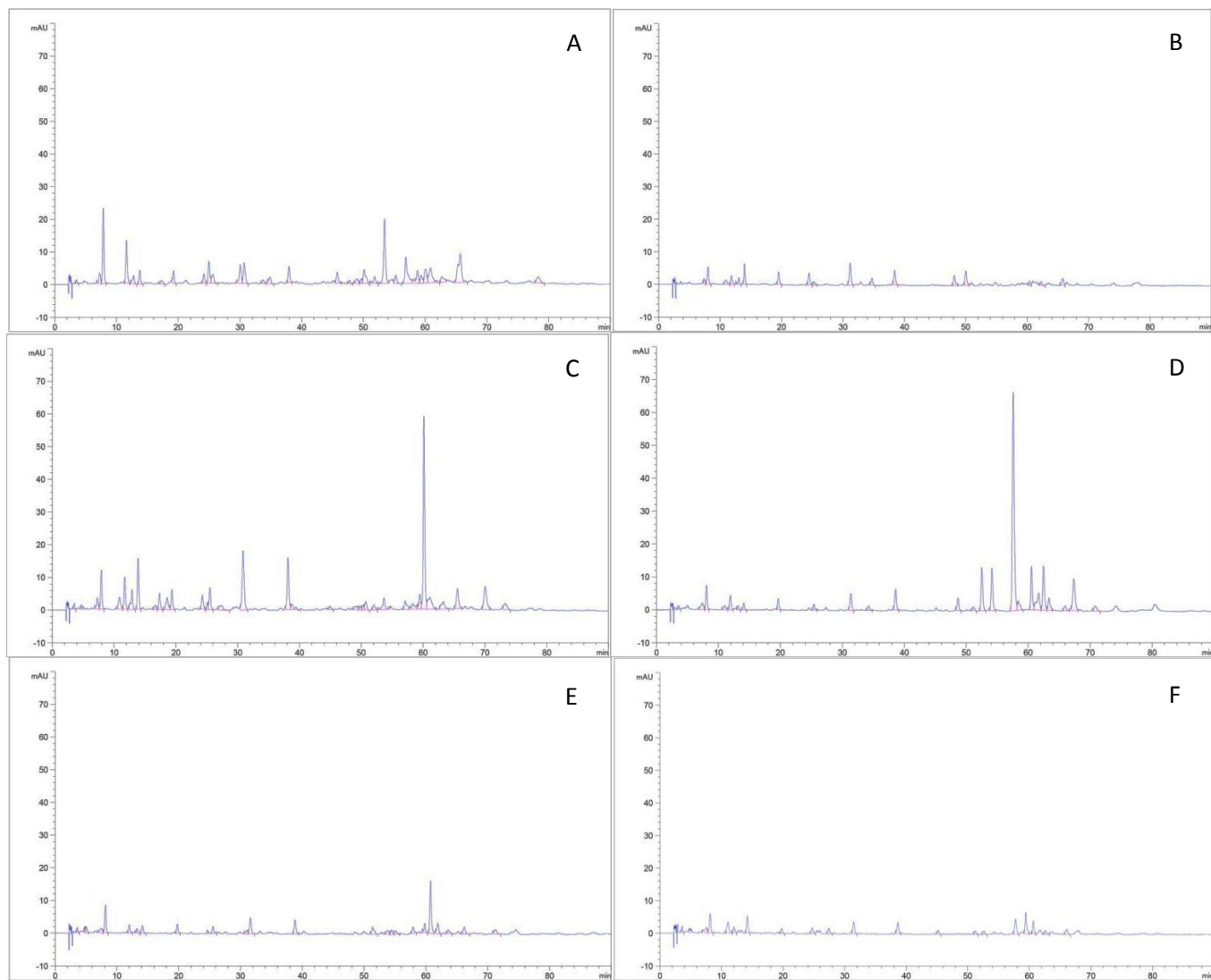


Figura 5. Cromatograma tipo, a 280 nm., de extracto de semilla completa de *A. hookeri* ssp. *maculata* Bayer (A), *A. pulchra* var. *maxima* (B), *A. angustifolia* var. *angustifolia* (C), *Alstroemeria pelegrina* (D), *A. umbellata* Meyen (E), *A. ligtu* ssp. *simsii* (F).

Los principales fenoles de bajo peso molecular presentes y detectados en las seis especies evaluadas, son el ácido protocatéquico, con concentraciones que van desde 0,59 mg·kg⁻¹ de semilla en la especie *A. pulchra* var. *maxima* hasta 26,38 mg·kg⁻¹ de semilla en *A. hookeri* ssp. *maculata*, tirosol con valores entre 33,18 y 41,04 mg·kg⁻¹ de semilla, y ácido vainílico, que estuvo presente en altas concentraciones en todas las especies (70,07 a 72,54 mg·kg⁻¹ sem). Otro compuesto detectado en grandes cantidades fue el aldehído benzoico (70,44 – 76,36 mg·kg⁻¹ sem), sin embargo en la única especie que no se encontró fue en *A. pelegrina* (Cuadro 5).

Por otro lado, *A. angustifolia* var. *angustifolia* presentó la mayor cantidad de fenoles (17), existiendo compuestos que no estaban en ninguna de las otras especies como el ácido p-hidroxibenzoico, (+) catequina, vainillina y ácido ferúlico. El ácido siríntrico fue detectado en esta especie y también en *A. umbellata*. Por su parte, *A. pulchra* var. *maxima* fue la especie con el menor número de fenoles detectados, encontrándose solo cuatro.

Con respecto a la quercitina-3-ramnósido, se encontró que estuvo presente en *A. hookeri* ssp. *maculata*, *A. angustifolia* var. *angustifolia*, *A. ligtu* ssp. *simsii* y *A. pelegrina*, siendo en esta última donde obtuvo un valor muy distinto al resto, alcanzando 166,11 mg·kg⁻¹ de semilla. Los espectros de absorción asociados a estos compuestos se encuentran en el Apéndice 10.1.

Se ha reportado en varias investigaciones que los compuestos fenólicos, además de participar en la defensa en contra de patógenos (Codignola *et al.*, 1988) o de predadores (Ríos y Mangione, 2010), son los compuestos alelopáticos más comunes (Ali *et al.*, 2010), actuando como inhibidores de la germinación en especies de semillas de *Coffea arabica* (Pereira *et al.*, 2002), *Cistus ladanifer* (Valares, 2011) y evaluados en germinación de semillas de lechuga como indicador de fitotoxicidad (Inácio *et al.*, 2013).

Estos compuestos reducirían la germinación de las semillas, inhibiendo la actividad de las peroxidasas, que intervienen en la neutralización de las especies reactivas de oxígeno y en la oxidación de otros compuestos fenólicos, procesos que son esenciales para romper la cubierta de la semilla dura y facilitar la emergencia de la plántula (Kong *et al.*, 2008).

Codignola *et al.* (1988) señalaron que en primordios de hoja, la composición fenólica no variaba significativamente durante la dormancia, pero cuando se superaba dicho estado, la composición variaba y algunos compuestos como el ácido vainílico ya no eran detectados. Para yemas florales de manzano, también fue informada una disminución del contenido de fenoles a la salida de la dormancia (Mohamed *et al.*, 2014). En el caso de las semillas, Cevallos-Casals y Cisneros-Zevallos (2010), señalaron que fenoles y antocianos se comenzaban a sintetizar después de la dormancia, por lo que su presencia en esta etapa se debe a la contribución de la planta madre. Sin embargo, esto se contrapone con lo informado por Inácio *et al.* (2013), quienes observaron un aumento de los fenoles totales después de la dispersión de las semillas y una paulatina degradación en el tiempo.

Investigaciones realizadas en atriplex, mostraron una correlación positiva entre la germinación y el contenido de fenoles totales, existiendo presencia importante de fenoles

Cuadro 5. Compuesto fenólicos de bajo peso molecular detectados mediante HPLC, con sus respectivos tiempos de retención (TR), absorbancia en el peak del compuesto reconocido (UV-VIS) y concentración en $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de semilla, para seis especies de *Alstroemeria*.

Compuestos fenólicos	<i>A. hookeri</i> ssp. <i>maculata</i>			<i>A. angustifolia</i> var. <i>angustifolia</i>		
	TR	UV-VIS	$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sem	TR	UV-VIS	$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sem
Ác. protocatéquico	7,87	260 - 294	26,38	7,94	260 - 294	10,17
Aldehído benzoico	11,63	232 - 280 - 310	76,36	11,72	234 - 280 - 312	74,61
Ác. p-hidroxibenzoico	12,79	254	ND	12,91	254	0,39
Tirosol	13,78	232 - 276	34,37	13,89	230 - 274	41,04
(+) Catequina	-	-	-	18,59	232 - 278	18,69
Ác. vainíllico	19,24	260 - 296	71,30	19,36	260 - 294	72,54
Ác. siríngico	-	-	-	25,09	228 - 276	9,19
Vainillina	-	-	-	25,50	232 - 280 - 310	73,07
Epicatequina	-	-	-	27,40	232 - 279	11,82
Ác. p-coumárico	30,69	230 - 310	ND	30,87	231 - 311	ND
Ác. ferúlico	37,95	238 - 324	ND	38,13	236 - 322	6,47
Resveratrol	-	-	-	49,79	285 - 315	5,83
Quercitina-3-glucósido	51,80	256 - 354	7,89	52,03	258 - 356	4,75
Quercitina-3-galactósido	55,25	256 - 352	7,43	53,66	256 - 354	13,60
Quercitina-3-ramnósido	58,76	254 - 348	10,45	57,10	256 - 354	9,41
Di-OH-flavonol (astilbina)	-	-	-	65,56	232 - 278	18,72
Glucósido de flavonol	-	-	-	70,03	264 - 346	26,52

ND: no detectado a la escala del método utilizado.

(-): no existe presencia del compuesto.

(continúa)

Cuadro 5. (continuación)

Compuestos fenólicos	<i>A. pulchra</i> var. <i>maxima</i>			<i>Alstroemeria pelegrina</i>		
	TR	UV-VIS	mg·kg ⁻¹ sem	TR	UV-VIS	mg·kg ⁻¹ sem
Ác. protocatéquico	8,04	260 - 296	0,59	8,09	260 - 294	2,77
Aldehído benzoico	11,8	232 - 280 - 312	70,77	-	-	-
Ác. p-hidroxibenzoico	13,05	254	ND	-	-	-
Tirosol	13,97	230 - 276	34,76	14,10	230 - 273	33,18
(+) Catequina	-	-	-	-	-	-
Ác. vainílico	19,54	260 - 294	71,39	19,66	259 - 292	70,96
Ác. siríngico	-	-	-	-	-	-
Vainillina	-	-	-	-	-	-
Epicatequina	-	-	-	-	-	-
Ác. p-coumárico	31,18	232 - 310	ND	31,36	231 - 309	ND
Ác. ferúlico	38,43	232 - 324	ND	38,60	247 - 322	ND
Resveratrol	-	-	-	51,12	232 - 314	5,99
Quercitina-3-glucósido	-	-	-	-	-	-
Quercitina-3-galactósido	-	-	-	52,51	255 - 355	30,48
Quercitina-3-ramnósido	-	-	-	57,58	258 - 355	166,11
Di-OH-flavonol (astilbina)	-	-	-	-	-	-
Glucósido de flavonol	-	-	-	67,36	254 - 355	31,07

ND: no detectado a la escala del método utilizado.

(-): no existe presencia del compuesto.

* TR: tiempos de retención, UV-VIS: absorbancia en el peak del compuesto reconocido, mg·kg⁻¹: concentración del compuesto.

(continúa)

Cuadro 5. (continuación)

Compuestos fenólicos	<i>Alstroemeria umbellata</i>			<i>Alstroemeria ligtu ssp. simsii</i>		
	TR	UV-VIS	mg·kg ⁻¹ sem	TR	UV-VIS	mg·kg ⁻¹ sem
Ác. protocatéquico	8,16	259 - 291 229 - 278 -	4,74	8,17	261 - 293 232 - 280 -	1,68
Aldehído benzoico	12,03	311	70,62	12,03	310	70,44
Ác. p-hidroxibenzoico	13,27	257	ND	-	-	-
Tirosol	14,15	231 - 275	33,35	14,19	230 - 275	35,18
(+) Catequina	-	-	-	-	-	-
Ác. vainíllico	19,79	260 - 292	70,77	19,78	260 - 292	70,07
Ác. siríngico	25,56	230 - 274	10,10	-	-	-
Vainillina	-	-	-	-	-	-
Epicatequina	30,97	228 - 278	5,85	-	-	-
Ác. p-coumárico	31,60	229 - 310	ND	31,47	231 - 309	ND
Ác. ferúlico	38,86	238 - 321	ND	38,65	240 - 323	ND
Resveratrol	51,37	233 - 319	7,30	51,21	238 - 320	5,75
Quercitina-3-glucósido	54,44	255 - 351	3,58	-	-	-
Quercitina-3-galactósido	-	-	-	-	-	-
Quercitina-3-ramnósido	-	-	-	57,74	255 - 356	11,27
Di-OH-flavonol (astilbina)	-	-	-	59,41	233 - 278	14,06
Glucósido de flavonol	63,63	254 - 351	3,58	62,23	267 - 350	7,43

ND: no detectado a la escala del método utilizado.

(-): no existe presencia del compuesto.

* TR: tiempos de retención, UV-VIS: absorbancia en el peak del compuesto reconocido, mg·kg⁻¹: concentración del compuesto.

como p-caumárico, ácido ferúlico y p-hidroxibenzoico (Khan y Ungar, 1986). Estos mismos autores señalaron que el porcentaje de inhibición de la germinación se veía afectado dependiendo del tipo de fenol presente, es decir por ejemplo las quercitinas, p-caumárico, ácido ferúlico y p-hidroxibenzoico, afectaban en un alto porcentaje la inhibición (80%), y el ácido vainílico y ácido siríngico, tenían una inhibición media (70-30%) sobre la germinación. Además indicaron que los fenoles eran más efectivos inhibiendo semillas más pequeñas. Este dato podría indicar que debido a la presencia de ácido vainílico en todas las especies de alstroemerias analizadas, éstas verían inhibida su germinación medianamente y que afectaría en mayor medida a *A. hookeri* ssp. *maculata*, debido a que es la de menor tamaño. Por otra parte el ácido ferúlico y p-hidroxibenzoico, están presentes también en *A. angustifolia* var. *angustifolia*. La presencia de quercitinas en todas las especies, a excepción de *A. pulchra* var. *maxima*, indicaría un alto nivel de inhibición, sobre todo en *A. pelegrina* que tiene la concentración más alta de dicho fenol. De esta forma, todas las especies presentan a lo menos dos de los fenoles señalados por Khan y Ungar (1986), excepto *A. pulchra* var. *maxima*, por lo que debieran ver afectada su germinación.

Por otra parte, Thompson *et al.* (2001) observaron que en *Disas*, el color desarrollado por la semilla tenía directa relación con la presencia de compuestos fenoles, y que éste estaba dado por la oxidación de los mismos. Estos autores vieron que el rango de color, que iba de bronceado pálido a café oscuro, era un indicativo de la cantidad de fenoles presentes. Asimismo, encontraron una alta correlación ($R^2 = 0,8561$) entre la facilidad para germinar y los niveles de fenoles, mostrando una mayor facilidad de germinación aquellas semillas que poseían menor contenido fenólico, percatándose además, que estas se caracterizaban por ser semillas más globosas que las que tenían un alto contenido de compuestos fenólicos, que eran semilla más pequeñas.

Del mismo modo, existe una relación entre el contenido fenólico y el ambiente en el cual habitan las especies, donde especies de lugares más húmedos tienen menor contenido de fenoles ($1-2,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ equivalentes de ácido tánico) que especies de verano, de alta altitud o de invierno con condiciones severas ($2,5-7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ equivalentes de ácido tánico) (Thompson *et al.* 2001). Esta información permite inferir que el agua disminuye la concentración de los compuestos inhibidores en el medio ambiente del embrión, sugiriendo una dilución por aumento de agua (Cevallos-Casals y Cisneros-Zevallos, 2010). Con estos antecedentes se podría suponer que especies de la costa tendrían menor contenido fenólico que las que habitan en la cordillera debido a que es más húmedo, sin embargo los datos indican que *A. hookeri* ssp. *maculata*, encontrada en Los Vilos, tiene más fenoles que la otra especie de la misma localidad y que las provenientes de la cordillera. Esto podría deberse a las distintas condiciones ambientales provocadas por cada ecosistema como se ha discutido en puntos anteriores. Por lo que sería interesante evaluar cuan influyente es la humedad ambiental en la acumulación de fenoles durante el desarrollo de la semilla, ya que es probable que las precipitaciones de cada lugar sean importantes luego de la dispersión para poder lavar los fenoles presentes.

Por último, otro compuesto fenólico de importancia son los taninos, estos inhibirían la germinación provocando una reducción en la síntesis de enzimas hidrolíticas en el endospermo (Benítez-Domínguez *et al.*, 2011). No obstante, estos compuestos son muy

variables en su estructura química y sus efectos podrían cambiar dependiendo de las condiciones ambientales (Wang y Chen, 2008), haciendo que puedan actuar como inhibidores o estimuladores de la germinación, o no provocar efecto alguno (Benítez-Domínguez *et al.*, 2011). Al respecto, Inácio *et al.* (2013) señala que los compuestos fenólicos varían con el tiempo y la temperatura, existiendo una relación directa entre el aumento de temperatura y un mayor contenido fenólico.

En resumen, semillas de color oscuro tendrían mayor cantidad de fenoles, lo que provocaría menor facilidad para germinar, y estarían asociadas a ambientes más desfavorables. Además, un menor tamaño de la semilla también estaría relacionado a un mayor nivel de fenoles. En el caso de alstroemeria, *A. hookeri* ssp. *maculata* es la especie que presenta semillas de menor dimensión, teniendo efectivamente, más fenoles totales que el resto de las especies, sin olvidar que la diferencia no fue evaluada estadísticamente. Sin embargo, y contrario a lo esperado, que semillas con mayor concentración de fenoles habiten en lugares con menor humedad ambiental, mayor altitud e inviernos crudos, *A. hookeri* ssp. *maculata* habita en la costa de la Región de Coquimbo de Chile.

Es importante señalar que los análisis de determinación fenólica en las especies de alstroemeria se hicieron a la semilla completa, y cada parte de la semilla presenta distintos tipos de fenoles, en distintas concentraciones (Khan y Ungar, 1986). Habría que analizar en un futuro la concentración de fenoles en las distintas estructuras de las semillas de alstroemeria y ver su relación con el comportamiento de la dormancia. De todas formas, la concentración de fenoles observadas, parece ser baja ($0,16611 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de semillas, valor más alto obtenido correspondiente al contenido de quercitina de *A. pelegrina*), en relación a lo registrado por Inácio *et al.* (2013) quien consideró significativo un contenido fenólico de $12.300 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de semilla.

7.4. Evaluación de métodos pre-germinativos

La prueba de hipótesis entregada por el ANDEVA arrojó significativa ($p < 0,0001$) para la interacción entre los factores métodos pre-germinativos y especies de alstroemeria. Los resultados de germinación obtenidos con los diferentes métodos pre-germinativos (normalizados con el test de viabilidad) se presentan en los cuadros 6 y 7.

Al primer mes después de la siembra, se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos, donde la mejor germinación se logró con el método pre-germinativo de lavado con estratificación a $13 \text{ }^\circ\text{C}$ (LF13°) en las especies *A. pelegrina* y *A. angustifolia* var. *angustifolia*, obteniendo un 98,3 y un 91,7 % de germinación respectivamente, y los peores resultados se obtuvieron con los tratamientos de estratificación fría a $1 \text{ }^\circ\text{C}$ (F1°), lavado (LS) y siembra directa (SD) en todas las especies a excepción de *A. pelegrina*, sin germinación. Dentro de los peores tratamientos también se encuentra el lavado con frío a $1 \text{ }^\circ\text{C}$ (LF1°) en todas las especies exceptuando *A. angustifolia* var. *angustifolia* y *A. ligtu* ssp. *simsii* (Cuadro 6).

Cuadro 6. Porcentaje de germinación observados a los 30 días después de siembra, luego de aplicar 6 métodos pre germinativos en 10 especies de *Alstroemeria* spp.

Especie	Tratamientos											
	LF13		F13°		LF1°		SD		LS		F1°	
<i>A. pelegrina</i>	98,3	A*	13,3	E	3,3	F	78,3	B	38,3	D	11,7	E
<i>A. angustifolia angustifolia</i>	91,7	A	51,7	C	55,0	C	0,0	F	5,0	F	0,0	F
<i>A. hookeri</i> ssp. <i>maculata</i>	80,0	B	46,7	C	0,0	F	1,7	F	0,0	F	0,0	F
<i>A. ligtu</i> ssp. <i>simsii</i>	81,7	B	1,7	F	35,0	D	0,0	F	1,7	F	0,0	F
<i>A. umbellata</i>	40,0	D	0,0	F	6,7	F	0,0	F	0,0	F	0,0	F
<i>A. magnifica</i> ssp. <i>magenta</i>	31,7	D	0,0	F	0,0	F	0,0	F	0,0	F	0,0	F
<i>A. pallida</i>	26,7	D	0,0	F	1,7	F	0,0	F	0,0	F	0,0	F
<i>A. pulchra</i> ssp. <i>pulchra</i>	18,3	E	10,0	E	0,0	F	0,0	F	0,0	F	0,0	F
<i>A. pulchra</i> var. <i>maxima</i>	16,7	E	1,7	F	0,0	F	0,0	F	0,0	F	0,0	F
<i>A. pseudospathulata</i>	0,0	F	0,0	F	0,0	F	0,0	F	0,0	F	0,0	F

(*) Letras distintas representan diferencias significativas de acuerdo al test de DGC ($p \leq 0,05$).

LF13°: Lavado y frío 13 °C, F13°: Frío 13 °C, LF1°: Lavado y frío 1 °C, SD: Siembra directa, LS: Lavado, F1°: Frío 1 °C.

Además, es posible apreciar que la especie que peor se comportó dentro de los primeros 30 días, es *A. pseudospathulata* que no respondió a ningún método pre-germinativo.

A. pelegrina reaccionó positivamente a todos los tratamiento con un mínimo de germinación de 3,3% con el método de lavado con estratificación a 1 °C, y un máximo de 98,3% con el método de lavado y estratificación a 13 °C, siendo estas diferencias significativas entre ellas. Es importante destacar que en esta especie incluso el tratamiento control obtuvo un alto porcentaje de germinación (78,3%).

Al término del ensayo (60 días) se encontraron más diferencias que al primer mes, debido a que hubieron métodos pre-germinativos que antes no habían dado resultado, sin embargo, se mantienen como mejor tratamiento el lavado con estratificación a 13 °C (LF13°) en *A. pelegrina* (98,3%) y *A. angustifolia* var. *angustifolia* (91,7%) y se sumaron el de siembra directa y lavado en *A. pelegrina* (98,3% y 93,3% respectivamente). El peor tratamiento sigue siendo el método de frío a 1 °C y lavado en todas las especies a excepción de *A. pelegrina* (Cuadro 7).

A los 60 días, se obtuvo germinación en *A. pseudospathulata* con el tratamiento de lavado y estratificación a 13 °C (4,5%), sin embargo, este resultado no es estadísticamente significativo en comparación a los tratamientos que no obtuvieron germinaron. El mejor método pre-germinativo para todas las especies de alstroemerias evaluadas fue el de lavado y estratificación a 13 °C.

Cuadro 7. Porcentaje de germinación observados a los 60 días después de siembra, luego de aplicar 6 métodos pre germinativos en 10 especies de *Alstroemeria* spp.

Especie	Tratamientos											
	LF13		F13°		LF1°		SD		LS		F1°	
<i>A. pelegrina</i>	98,3	A*	26,7	F	5,0	H	98,3	A	93,3	A	26,7	F
<i>A. angustifolia angustifolia</i>	91,7	A	55,0	C	60,0	C	30,0	F	10,0	G	5,0	H
<i>A. hookeri</i> ssp. <i>maculata</i>	81,7	B	50,0	D	0,0	H	8,3	G	0,0	H	0,0	H
<i>A. ligtu</i> ssp. <i>simsii</i>	83,3	B	1,7	H	38,3	E	3,3	H	5,0	H	5,0	H
<i>A. umbellata</i>	61,7	C	0,0	H	8,3	G	1,7	H	0,0	H	0,0	H
<i>A. magnifica</i> ssp. <i>magenta</i>	31,7	F	0,0	H	0,0	H	0,0	H	0,0	H	0,0	H
<i>A. pallida</i>	26,7	F	0,0	H	1,7	H	0,0	H	0,0	H	0,0	H
<i>A. pulchra</i> ssp. <i>pulchra</i>	20,0	G	10	G	0,0	H	0,0	H	0,0	H	0,0	H
<i>A. pulchra</i> var. <i>maxima</i>	16,7	G	1,7	H	0,0	H	0,0	H	0,0	H	0,0	H
<i>A. pseudospathulata</i>	4,5	H	0,0	H	0,0	H	0,0	H	0,0	H	0,0	H

(*) Letras distintas representan diferencias significativas de acuerdo al test de DGC ($p \leq 0,05$).

LF13°: Lavado y frío 13 °C, F13°: Frío 13 °C, LF1°: Lavado y frío 1 °C, SD: Siembra directa, LS: Lavado, F1°: Frío 1 °C.

Las semillas de *A. pelegrina* germinaron con todos los tratamientos, no obstante hay diferencias significativas entre algunos. Los porcentajes de germinación más altos se obtuvieron con el lavado y estratificación a 13 °C, lavado y el tratamiento control, y los más bajos se obtuvieron con la estratificación fría a 1 °C y 13 °C y el lavado con estratificación a 1 °C. Debido a que con el tratamiento control (SD) se logró un alto porcentaje de germinación, es posible que esta especie no presente dormancia o sea de tipo no profunda, y que los tratamientos de estratificación fría hayan provocado el efecto contrario al esperado, inducir dormancia, posiblemente debido a la disminución en la velocidad de reacciones enzimáticas.

Por otro lado, existieron diferencias significativas en la velocidad de germinación alcanzada con los métodos pre-germinativos. Este índice supone una medida del vigor de la semilla y al ser obtenido mediante la germinación máxima y los días transcurridos para alcanzarla (Willan, 1991), mientras más alta sea esta relación, mayor es la velocidad.

En el Cuadro 8 se presentan los índices de velocidad de germinación obtenidas y es posible apreciar que los tratamientos que alcanzaron más rápidamente su máximo porcentaje de germinación fueron los tratados con lavado con estratificación a 13 °C en todas las especies, excepto *A. pseudospathulata*, estratificación a 13 °C en *A. angustifolia* var. *angustifolia*, *A. hookeri* ssp. *maculata* y *A. pulchra* ssp. *pulchra*, lavado con frío a 1 °C en *A. angustifolia* var. *angustifolia* y *A. ligtu* ssp. *simsii*, y siembra directa y lavado en *A. pelegrina*.

Cuadro 8. Velocidad de germinación alcanzado con la aplicación de 6 métodos pre germinativos en las 10 especies de *Alstroemeria* spp.

Especie	Tratamientos											
	LF13		F13°		LF1°		SD		LS		F1°	
<i>A. pelegrina</i>	11,48	A*	0,84	B	0,20	C	3,37	A	2,48	A	0,74	B
<i>A. angustifolia angustifolia</i>	8,09	A	4,37	A	3,59	A	0,60	B	0,26	C	0,10	C
<i>A. hookeri</i> ssp. <i>maculata</i>	7,97	A	4,38	A	0,00	C	0,20	C	0,00	C	0,00	C
<i>A. ligtu</i> ssp. <i>simsii</i>	8,61	A	0,09	C	1,89	A	0,07	C	0,13	C	0,12	C
<i>A. umbellata</i>	2,16	A	0,00	C	0,27	C	0,03	C	0,00	C	0,00	C
<i>A. magnifica</i> ssp. <i>magenta</i>	3,35	A	0,00	C	0,00	C	0,00	C	0,00	C	0,00	C
<i>A. pallida</i>	2,05	A	0,00	C	0,11	C	0,00	C	0,00	C	0,00	C
<i>A. pulchra</i> ssp. <i>pulchra</i>	1,76	A	1,45	A	0,00	C	0,00	C	0,00	C	0,00	C
<i>A. pulchra</i> var. <i>maxima</i>	1,54	A	0,12	C	0,00	C	0,00	C	0,00	C	0,00	C
<i>A. pseudospathulata</i>	0,11	C	0,00	C	0,00	C	0,00	C	0,00	C	0,00	C

(*) Letras distintas representan diferencias significativas de acuerdo al test de DGC ($p \leq 0,05$).

LF13°: Lavado y frío 13 °C, F13°: Frío 13 °C, LF1°: Lavado y frío 1 °C, SD: Siembra directa, LS: Lavado, F1°: Frío 1 °C.

A pesar de no existir diferencias significativas entre las especies al utilizar el método pre germinativo LF13°, la mayor velocidad se obtuvo en *A. pelegrina*. Esto se puede apreciar gráficamente en la Figura 7, en la cual se presentan las curvas de germinación acumulada, donde *A. pelegrina* fue la especie que alcanzó más rápido su máxima germinación (15 días) con este método (LF13°) y además logró mayor porcentaje de germinación que el resto de las especies.

Del mismo modo, se observa cómo se comportaron las especies con cada método en particular, pudiendo observar que *A. pelegrina* alcanzó igual porcentaje de germinación tanto en el control como con el LF13°, sin embargo, el primer método se demoró 15 días más. Por otra parte, *A. angustifolia* var. *angustifolia* se comportó similar a *A. hookeri* ssp. *maculata* en la estratificación a 13 °C (F13°) demorándose ambas 15 días en lograr sus respectivos máximos de germinación. Cuando se utilizó el método de lavado y estratificación a 1 °C, *A. angustifolia* necesitó 30 días para alcanzar el máximo porcentaje de germinación, por el contrario *A. hookeri* ssp. *maculata* no generó respuesta alguna a esa temperatura, independiente del lavado (Figura 6).

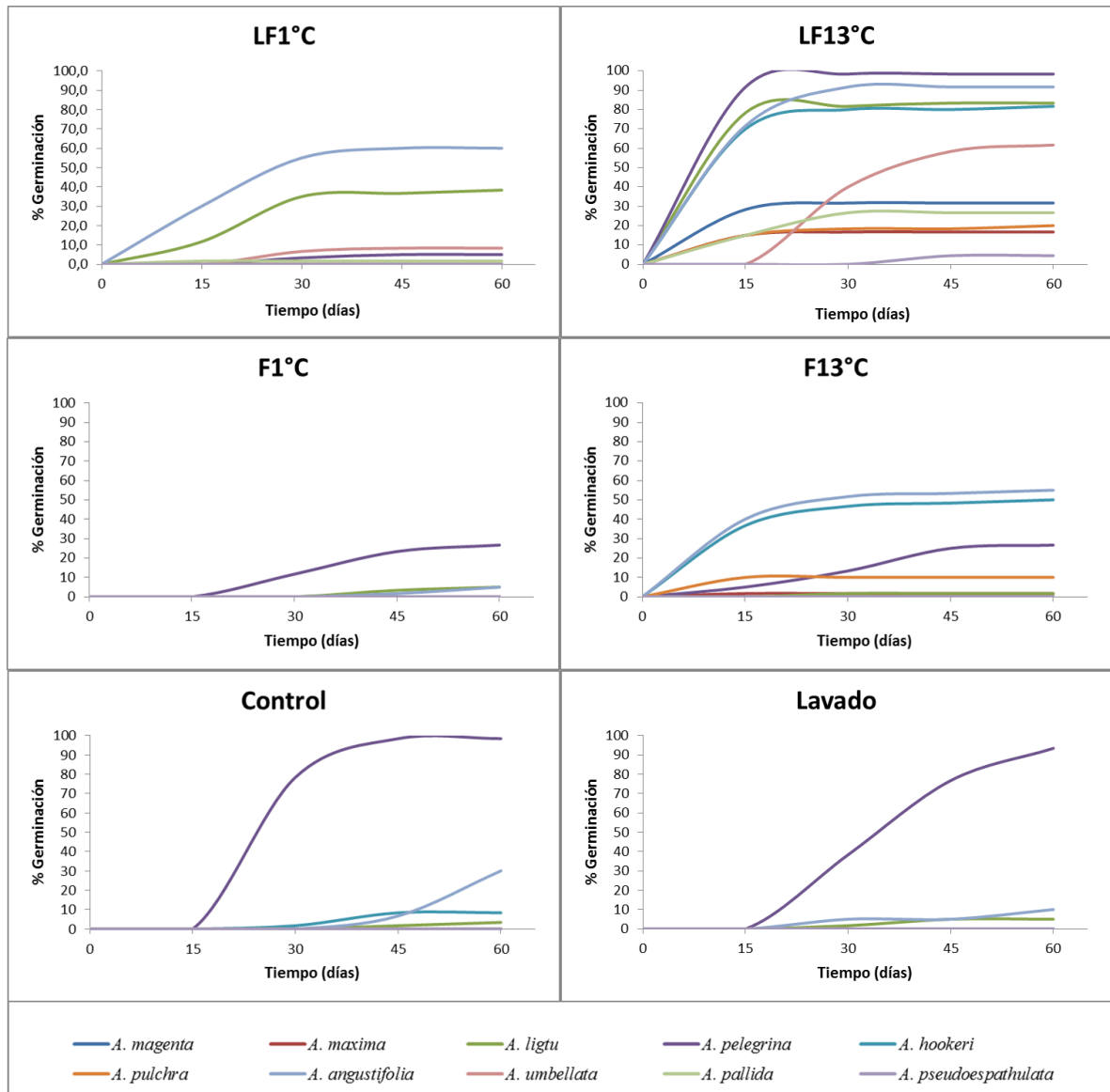


Figura 6. Curva de germinación acumulada de diez especies de *Alstroemerias* con seis tratamientos pre-germinativos.

LF1°C: Lavado y frío a 1 °C, LF13°C: Lavado y frío a 13 °C, F1°C: Frío a 1 °C, F13°C: Frío a 13 °C.

La temperatura es un factor importante que afecta muchas funciones y reacciones de las células, es por esta razón que se ha utilizado la estratificación como un método efectivo para promover la maduración del embrión en las semillas con dormancia fisiológica. Las bajas temperaturas son consideradas como iniciadoras o aceleradoras de procesos que conducen a la eliminación de la dormancia (De La Cruz *et al.*, 2013).

En *Arabidopsis thaliana*, se ha demostrado que la temperatura regula la capacidad de las semillas de responder al estímulo lumínico, que tienen implicancias en la síntesis de hormonas implicadas en la germinación y también mejora la capacidad de respuesta a la misma (Derkx y Karssen, 1993). Al respecto Milberg *et al.* (2000), señalan que semillas pequeñas requieren de mayor estímulo lumínico para germinar.

El período de estratificación varía según la especie y depende de promover una rápida salida de la dormancia y por otro lado, evitar inducir la dormancia (Totterdell y Roberts, 1079). En este sentido se han realizado varias investigaciones en diferentes especies (Al-Menaie *et al.*, 2007; Raisi *et al.*, 2013), con el fin de determinar las temperaturas más efectivas que permitan acelerar la germinación. Así, especies como *Sambucus racimosa* alcanzan el máximo porcentaje de germinación (77-100%) cuando sus semillas son expuestas a 5 °C durante 12 semanas (Hidayati *et al.*, 2000), en *Eriochloa villosa* 8 semanas a 5 °C logra un 90% de germinación (Bello *et al.*, 1998), otras como *Coreopsis lanceolata*, temperaturas de 15 y 25 °C generan porcentajes de germinación de 15 y 16 % respectivamente, lo que es importante considerando que cuando son sometidos a 5 °C entran en dormancia secundaria (Banovetz y Scheiner, 1994).

Asimismo, se ha visto que dentro de una misma especie pueden existir diferencias en la respuesta al tratamiento de estratificación, como es el caso de las semillas de dos accesiones de quinua (*Chenopodium quinoa*), donde Ceccato *et al.* (2011) indicaron que existían altos niveles de dormancia y que era más profunda en 'Chadmo' que en '2- Want '. De igual forma, se mostraron diferencias en los requerimientos de temperatura para superar la dormancia en especies de *Bidens*, en la cual fueron efectivas temperaturas de 3 y 12 °C (Brändel, 2004). Este parece ser el caso de las especies de alstroemerias estudiadas, ya que la respuesta a un mismo método pre-germinativo varía significativamente de una especie a otra.

Por otro lado, según Young y Young (1992) muchas semillas tienen dificultad para germinar debido a que la dosis de oxígeno que se difunde a través de la cubierta de la semilla es muy baja o nula, de modo que en este caso las baja temperatura provocarían que una mayor cantidad de oxígeno se disuelva en el agua y por lo tanto haya más oxígeno disponible para el embrión. Thompson *et al.* (2001) atribuye a los fenoles la incapacidad del oxígeno para entrar a la semilla, en cambio otros, señalan que los compuestos fenólicos estarían influyendo en la regulación de auxinas sintetizadas en los tejidos embrionarios. (Willemsen y Rice, 1972). Sin embargo, estas sustancias también podrían estar actuando solo como sustancias inhibitoras y no como una barrera mecánica, restringiendo el acceso de agua o gases (Bo *et al.*, 1995).

Respecto a esto, estudios han señalado que semillas de alstroemeria probablemente exhibirían una combinación de dormancia fisiológica, debido a inhibidores en la cubierta de las semillas (Rey y Bridgen, 1990; Nasri *et al.* 2013; Nasri *et al.* 2014). En las especies a las que se les analizó los compuestos fenólicos, hay tres que son particularmente interesantes, *A. angustifolia* var. *angustifolia* que tiene la mayor diversidad de fenoles, *A. pelegrina* que junto con la anterior poseen un perfil fenólico similar, ambas con el mayor porcentaje de germinación, y *A. pulchra* var. *maxima* que posee la menor diversidad de fenoles. Esta última tuvo uno de los porcentajes de germinación más bajos. No obstante, se realizaron regresiones con los datos obtenidos de germinación, fenoles y taninos totales, de las seis especies de alstroemeria y no se encontró relación entre la cantidad de compuestos fenólicos y el porcentaje de germinación (Apéndice 10.6.3 y 10.6.4). Estos antecedentes permitirían descartar a los fenoles como importante inhibidor en la germinación de alstroemerias y más aún, la hipótesis de que la quercitina sería el compuesto responsable de

mantener la dormancia, debido a que es el que se encontraba en mayor concentración en *A. pelegrina* que es la especie con mayor porcentaje de germinación.

Sin embargo, a pesar de que el tratamiento con lavado mejoró los resultados de germinación, no fue suficiente para superar la dormancia en todas las especies, seguramente porque la presencia de fenoles no es tan determinante en la inhibición de la germinación, y es posible que la mayor parte de la dormancia esté dada por la presencia de un embrión inmaduro.

A partir de los datos expuestos, se puede inferir que la dormancia presente en este género, es de tipo fisiológica, ya que la combinación del lavado de la semilla y estratificación a una temperatura de 13°C fue la más exitosa en todas las especies. Las diferencias en el porcentaje obtenido pueden deberse a que se presentan distintas profundidades en la dormancia.

Por otro lado, la baja germinación que se logra con la estratificación a 1 °C, lleva a pensar que para las especies de alstroemerias estudiadas, dormancias más profundas no son superadas con temperaturas más bajas, como ocurre en *Coreopsis lanceolata*, donde temperaturas de 5 °C inducen dormancia secundaria (Banovetz y Scheiner, 1994). Es posible que la intensidad del frío no sea relevante en la superación de la dormancia de alstroemerias, por el contrario estarían induciendo este estado, por lo que se debiesen realizar ensayos a 13 °C pero aumentando el tiempo de estratificación. Se ha visto que el tiempo de germinación disminuye con la duración de la estratificación (Nasri *et al.* 2013; Nasri *et al.* 2014).

Si bien, cada especie responde distinto a las temperaturas de estratificación, y que existen especies que al ser almacenadas a -10 °C no afectan su posterior germinación (Banovetz y Scheiner, 1994) y otras que a 1,5 °C superan la dormancia (Totterdell y Roberts, 1979), es poco probable que los embriones de semillas de alstroemeria hayan sufrido daño durante la estratificación, ya que no fueron expuestas a temperaturas menores a 0 °C (Chileflora, 2012). Además, en combinación con lavado, esa temperatura tuvo respuesta germinativa en la mitad de las especies evaluadas.

La germinación obtenida con cada especie a un mismo método pre-germinativo permite hacer una asociación preliminar de las distintas especies, respecto de los niveles de dormancia fisiológica, pudiendo inferir que *A. pelegrina* y *A. angustifolia* var. *angustifolia* debido al alto porcentaje de germinación (98,3 y 91,7% respectivamente) obtenido con el mejor método (LF13), presentarían dormancia no profunda. Asimismo *A. hookeri* ssp. *maculata*, *A. ligtu* ssp. *simsii* y *A. umbellata* exhibirían dormancia intermedia, alcanzando porcentajes de germinación de 81,7; 83,3 y 61,7% , y *A. magnifica* ssp. *magenta*, *A. pallida*, *A. pulchra* ssp. *pulchra*, *A. pulchra* var. *maxima* y *A. pseudospathulata*, presentarían dormancia profunda debido a los bajos porcentajes de germinación logrados (4,5-31,7%). Conclusiones similares presentaron Leon *et al.* (2006) cuando tres biotipos de *Amaranthus tuberculatus* tuvieron respuestas germinativas estadísticamente significativas (9, 29 y 88%) a un mismo tratamiento, señalando que éstas diferían es sus niveles de dormancia.

7.5 Asociación de la profundidad de la dormancia con la ubicación geográfica de 10 especies de *Alstroemerias*

Para asociar la profundidad de dormancia, definida como el grado en que los mecanismos que inhiben dicho proceso afectan a la semilla (Baskin and Baskin, 2004), con la ubicación geográfica, se realizó una matriz de correlación (Figura 9). En ella se puede apreciar una alta correlación positiva significativa entre los tratamientos control (SD), lavado (LS) y estratificación a 1 °C (F0), lo que se condice con los resultados de germinación obtenidos, donde la respuesta a los tratamientos era estadísticamente igual, no teniendo efecto significativo en la germinación en la mayoría de las especies.

Por otro lado, la longitud (X) que mide el ángulo a lo largo del ecuador y cuyos valores representan lugares de oeste a este, se encuentra correlacionado con el tratamiento LF0, y aunque no es una asociación significativa, refleja una tendencia a una mayor respuesta germinativa a dicho tratamiento a medida que las especies se encuentren más cercanas a la cordillera.

Estudios señalan que las condiciones ambientales a las que están expuestas las plantas durante el desarrollo de sus semillas, pueden tener un marcado efecto en el comportamiento de la germinación, siendo las altas temperaturas y fotoperiodos largos, factores que promueven y afectan los niveles y patrones de dormancia (Ceccato *et al.* 2011; Anderson y Milberg, 1998). Se ha demostrado que la temperatura es determinante en la adaptación de especies a diferentes localidades, dado que altera diversas funciones vitales (De La Cruz *et al.*, 2013).

Al respecto, Batlla *et al.* (2007) señala que en semillas de plantas que germinan en otoño las temperaturas para superar la dormancia varían entre 30 y 35 °C, debido a que germinan después del verano. Esto corroboraría la correlación entre las variables X y LF0, donde semillas de *alstroemerias* provenientes de la cordillera germinaran luego de ser expuestas a temperaturas más frías que las provenientes de la costa.

Sin embargo, en un estudio realizado en *Physaria* por Cruz *et al.* (2013), se encontró que no habían correlación significativa entre la germinación y los parámetros ambientales, existían correlaciones positivas entre la germinación y el tamaño y peso de la semilla, datos que coinciden con los de Jurado y Flores (2005), pero no fueron significativos. Lo mismo sucedió con la correlación negativa existente entre la germinación y la precipitación. Esto concuerda con los datos obtenidos en esta investigación, donde se encontraron tendencias entre variables de germinación y tamaño y peso de semilla, con coeficientes de correlación bajos y no significativos.

Por otro lado, existen tendencias que son interesantes de analizar, entre los fenoles y algunas variables ambientales, a pesar de no ser significativas a este nivel. Entre ellas se encuentra su asociación positiva con la latitud (Y) que mide el ángulo entre cualquier punto y el ecuador, temperatura en el mes más frío y temperatura media anual, y negativa con peso, diámetro, X y precipitación. Todo esto parece tener sentido si se piensa que valores más altos de Y representan lugares más al norte de Chile, donde a su vez la presencia de

lluvia decrece. Por otro lado X representa la longitud y al movernos hacia la cordillera se encuentra que hay más precipitaciones (correlación de 0,5 entre X y Pp). Esto indicaría que las precipitaciones son importantes en el contenido fenólico, donde a mayor precipitación la concentración de fenoles es menor.

En resumen, la concentración de compuestos fenólicos aumentaría en la medida que nos movemos hacia el Norte y hacia la Costa. Esto se explicaría debido a que en estas mismas zonas hay mayores temperaturas. Un aumento de éstas, ya sea por radiación o por aumento de la temperatura ambiental, está asociado a un aumento del desarrollo y acumulación de metabolitos secundarios, siendo óptimas temperaturas entre 17 y 27 °C (López, 2008). En estudios realizados en viñas se ha visto que aquellas que están en zonas más cálidas tienen mayor cantidad de fenoles que las ubicadas en zonas más frías (Martínez, 2002). Sin embargo, temperaturas medias o diurnas muy altas o poca oscilación entre el día y la noche, producirían menos fenoles (Andrades y González, 1995) u ocurriría la descomposición de estos, disminuyendo también la coloración (López, 2008).

Además, Martínez (2002) señala que la luz jugaría un papel importante, ya que este estímulo es necesario para activar la enzima PAL (fenilalanina amonio liasa), que se encuentra en la ruta metabólica de los compuestos fenólicos, sin embargo, este factor tendría mayor influencia a nivel microclimático, en función de la exposición. Así se ha demostrado en variedades de uvas, donde distintos lados de la espaldera con similar radiación, presentan distintas temperaturas, provocando mayor concentración de compuestos fenólicos en donde la temperatura es menor (López, 2008), por lo que la luz no sería requisito absoluto para la síntesis de estas sustancias.

También, López (2008) ha destacado en su estudio que un aumento en los fenoles tiene relación con la localización con respecto al nivel del mar y a la radiación UV-B. Esta última información coincide con lo señalado por Valares (2011), por lo que estos compuestos estarían ayudando a proteger los tejidos internos de la radiación UV. En cuanto a la altitud, y como se ha discutido anteriormente, es posible que se aumente el contenido fenólico hasta que se sobrepase o no se alcance el rango de temperatura adecuada, ya que en la medida que se aumenta en altitud, también disminuyen las temperaturas, por lo que la tendencia observada en esta investigación, entre altitud y contenido fenólico, tiene sentido.

Al igual que en vides, las semillas de alstroemerias presentan mayor contenido fenólico en localidades donde las temperaturas son mayores. Respecto a la luz, se concuerda con López (2008) en que no es requisito absoluto para la acumulación de fenoles, ya que en altitud hay mayor radiación pero su concentración es menor debido a que las temperaturas son más bajas, siendo esta última la variable determinante en la cantidad de fenoles acumulados. Sin embargo, la hipótesis de que la luz tendría mayor influencia a nivel microclimático puede ser correcta considerando que dos especies de una misma localidad (*A. pelegrina* y *A. hookeri* ssp. *maculata*) tienen diferencias en su contenido fenólico, donde es posible que la luz provoque esta diferencia por exposición o por vegetación circundante. En este caso, en el que a una misma temperatura existe mayor concentración de fenoles en la semilla de una especie que en otra, es probable que el papel de los fenoles sea más bien como protector contra los rayos UV.

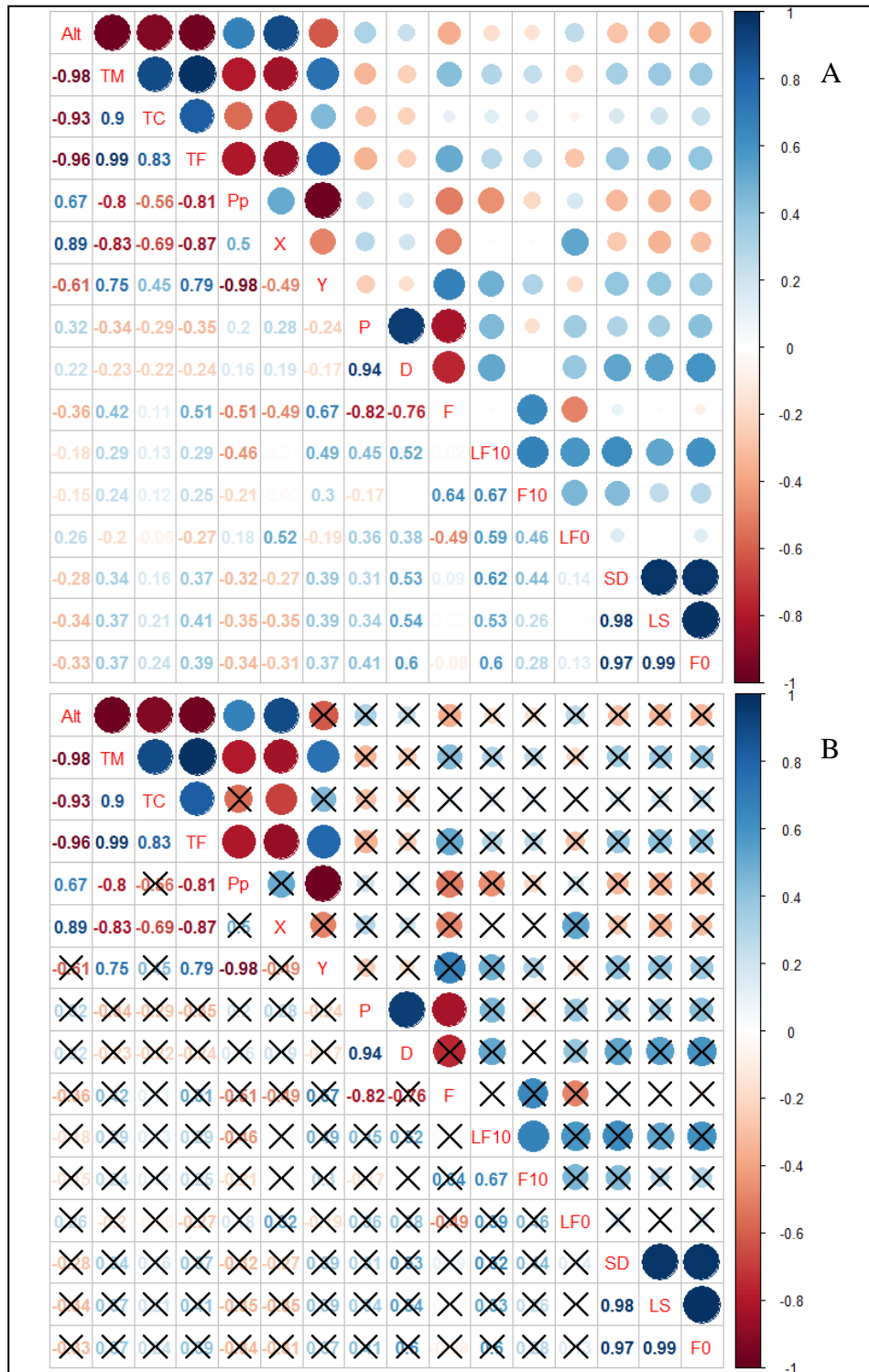


Figura 9. Matriz de coeficientes de correlación entre los descriptores cuantitativos de Alstroemerias (A) y coeficientes significativos (B).

Alt: Altitud, TM: Temperatura media anual, TC: Temperatura media en el mes más cálido, TF: Temperatura media en el mes más frío, Pp: Precipitación media anual, X e Y: Coordenadas geográficas, P: Peso, D: Diámetro, F: Fenoles, LF10: Lavado y frío 13 °C, F10: Frío 13 °C, LF0: Lavado y frío 1 °C, SD: Siembra directa, LS: Lavado, F0: Frío 1 °C.

* X: Indica valores de coeficientes de correlación no significativos (p>0,05).

** El color azul representan correlaciones positivas y el rojo, correlaciones negativas. A medida que aumentan en tamaño y en intensidad de color, la correlación es más alta.

En una próxima investigación, sería interesante evaluar cómo se ven afectados los fenoles con las variables ambientales en distintas poblaciones de una misma especie, teniendo más observaciones para comparar y analizar, y de este modo observar cuánta es la contribución de la planta madre y del ecosistema en el que permanece la semilla, en la acumulación o presencia de compuestos fenólicos. En este estudio no hubieron coeficientes significativos en muchas variables climáticas debido a que los datos son muy pocos, y por lo tanto existía mucha dispersión entre ellos. Sin embargo, existe evidencia de que se ven afectados, aun cuando no se pudo comprobar estadísticamente.

Incluir datos a un menor nivel jerárquico en términos ecológicos, también sería útil para establecer diferencias más claras, como datos de exposición Norte o Sur, debido a que afectan variables como temperatura y humedad, generando distintos ecosistemas en una misma localidad, y como se ha señalado anteriormente son las variables de mayor influencia en los patrones de dormancia.

Finalmente, a pesar de que estudios que incluyen hábitats indican que estas variables explican en una proporción pequeña la varianza (Rees, 1996), en plantas nativas, la variación en la dormancia de las semillas es ecológicamente importante y puede resultar en contrastes de ecotipos tras muchas generaciones de selección (Casas *et al.*, 2012; Allen y Meyer, 2002), ya que los mecanismos de dormancia evolucionan en respuesta a la diversidad de clima y hábitat de cada especie (Inácio *et al.*, 2013).

En esta investigación no se pudo asociar claramente la profundidad de dormancia y la ubicación geográfica, a pesar de encontrar una tendencia entre la longitud y el tratamiento de lavado y 1 °C, ya que la respuesta germinativa a este método fue mejor sólo en la especie *A. angustifolia* y no en *A. umbellata*. Esto también se ve reflejado en que independientemente del lugar de origen de cada especie, todas respondieron mejor al método de lavado con estratificación a 13 °C. Esto puede deberse a que 13 °C sea la temperatura base para la maduración fisiológica de embriones de semillas de alstroemeria, y por ende la superación de las distintas profundidades de dormancia no responda a una mayor intensidad de frío, sino a prolongar el tiempo de estratificación.

Por otra parte, según la clasificación de las especies realizada en esta investigación y los niveles de dormancia, tampoco es posible asociarlos a la ubicación geográfica debido a que en cada nivel existen especies de costa y cordillera, por lo que es posible que las diferencias no estén dadas por la altitud ni la longitud. Respecto de la influencia de la temperatura en este aspecto, no se puede aseverar que no tenga alguna implicancia, ya que Worldclim entrega datos a una escala de 1 kilómetro, lo que es muy amplio considerando todos los factores que están involucrados y que alteran esta variable. Es posible que los recursos con los que cuente la semilla para sobrevivir sea una limitante significativa para la dormancia de las semillas, sin embargo, para probar esto habría que incluir variables más específicas que permitan definir cada hábitat.

8. Conclusiones

El método pre-germinativo más efectivo para superar dormancia en semillas de especies de alstroemerias es el de lavado en combinación con estratificación fría a 13 °C. Es posible que 13 °C sea una temperatura cercana a la base para la maduración fisiológica de embriones de semillas de alstroemeria.

Las diferencias significativas en la respuesta germinativa al mejor tratamiento permiten asociar las especies de alstroemeria a los tres niveles de dormancia descritos, clasificando a las especies que obtuvieron un alto porcentaje de germinación (*A. pelegrina* y *A. angustifolia* var. *angustifolia*), como especies que presentan dormancia no profunda, aquellas que obtuvieron un porcentaje medio de germinación (*A. hookeri* ssp. *maculata*, *A. ligtu* ssp. *simsii* y *A. umbellata*), dormancia intermedia y las que tuvieron un bajo porcentaje de germinación (*A. magnifica* ssp. *magenta*, *A. pallida*, *A. pulchra* ssp. *pulchra*, *A. pulchra* var. *maxima* y *A. pseudospathulata*), dormancia profunda. Por lo tanto, se aprueba la hipótesis de que especies nativas chilenas del género *Alstroemeria* presentan dormancia fisiológica, impuesta por la presencia de compuestos fenólicos y en mayor medida por un embrión fisiológicamente inmaduro, la cual se expresa con distintas profundidades. Sin embargo, no es posible asociar la expresión de los niveles de dormancia al origen de cada especie, dado que los datos de ubicación geográfica no son suficientes para representar las condiciones ambientales a la que se encuentran expuestas las semillas de las poblaciones de alstroemeria.

Es posible que fenoles estén influenciando la dormancia en alstroemeria, sin embargo, no serían determinantes en ella, probablemente su función como protección ante reacciones oxidativas sea más importante. Por otro lado, existe evidencia de que el contenido fenólico se ve afectado por muchas variables climáticas, por lo que tampoco sería posible asociar determinada concentración de fenoles a una ubicación geográfica.

Se propone para una próxima investigación evaluar parámetros ambientales a un menor nivel jerárquico en términos ecológicos, e incluir distintas poblaciones de una misma especie para evaluar la contribución ambiental sobre la dormancia.

9. Literatura Citada

- Al-Menaie, H., N. Bhat, M. El-Nil, S. Al-Dosery, A. Al-Shatti, P. Gamalin and N. Suresh. 2007. Seed Germination of Argan (*Argania spinosa* L.). *European Journal of Scientific Research* 2: 1-4.
- Ali, Z., Q. Wang, X. Ruan, C. Pan and D. Jiang. 2010. Phenolics and Plant Allelopathy. *Molecules* 15 (12): 8933-8952.
- Anderson, L. and P. Milberg. 1998. Variation in seed dormancy among mother plants, populations and years of seed collection. *Seed Science Research* 8 (1): 29-38.
- Andrades, M. y M. González. 1995. Influencia climática en la maduración de la uva: estudio de cultivares de La Rioja y Madrid. *Zubía* 7: 79-102.
- Banovetz, S. and S. Scheiner. 1994. Secondary Seed Dormancy in *Coreopsis lanceolata*. *American Midland Naturalist* 131 (1): 75-83.
- Baskin C. and J. Baskin. 1998. Seeds – ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. San Diego, CA, USA: Academic Press 666 p.
- Baskin J. and C. Baskin. 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research* 14 (1): 1–16.
- Baskin, J. and C. Baskin. 2004. Classification, biogeography, and phylogenetic relationships of seed dormancy. (cap. 28, pp. 517-544). En: Pritchard, H. (Ed.) Seed conservation: turning science into practice. Londres, Great Britain: The Royal Botanic Gardens of Kew. ii, 994 p.
- Batlla, D., M. Nicoletta y R. Benech-Arnold. 2007. *Polygonum aviculare* L. seeds sensitivity to light as affected by soil moisture conditions. *Annals of Botany* 99: 915-924.
- Bayer, E. 1987. Die Gattung *Alstroemeria* in Chile. *Mitteilungen der Botanischen Staatssammlungen München* 24: 1-362.
- Bello, I., H. Hatterman-Valenti and M. Owen. 1998. Effects of Stratification, Temperature, and Oxygen on Woolly Cupgrass (*Eriochloa villosa*) Seed Dormancy. *Weed Science* 46 (5): 526-529.
- Benítez-Domínguez, L., F. Gomez-Merino, L. Trejo-Tellez y A. Robledo-Paz. 2011. Anatomía, contenidos de ácido abscísico y nutrientes y germinación de semillas de heliconia. *Revista Fitotecnia Mexicana* 34 (3): 189-196.
- Brändel, M. 2004. The role of temperature in the regulation of dormancy and germination of two related summer-annual mudflat species. *Aquatic Botany* 79 (1):15-18.

- Bo, J., D. Huiru and Y. Xiaohan. 1995. Shortening hybridization breeding cycle o rose- a study on mechanisms controlling achene dormancy. *Acta Horticulturae* 404: 40-47.
- Cavieres, L.; A. Peñaloza y M. Arroyo. 1998. Efectos del tamaño floral y densidad de flores en la visita de insectos polinizadores en *Alstroemeria pallida* Graham (Amaryllidaceae). *Gayana Botánica* 55 (1):1-10.
- Ceccato, D., D. Bertero and D. Batlla. 2011. Environmental control of dormancy in quinoa (*Chenopodium quinoa*) seeds: two potential genetic resources for pre-harvest sprouting tolerance. *Seed Science Research* 21 (2): 133-141.
- Cevallos-Casals, B. and L. Cisneros-Zevallos. 2010. Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. *Food Chemistry* 119 (4): 1485-1490.
- Chileflora. 2012. Manual de germinación. [en línea]. Recuperado en: <http://www.chileflora.com/Florachilena/FloraSpanish/SSEedsGerminacion.htm>. Consultado el 15 de julio de 2015.
- Codignola, A., M. Maffei and M. Fieschi. 1988. Phenols and bud dormancy. II. Qualitative variations in endogenous phenols in dormant buds of *Fagus sylvatica* L. *New Phytologist* 110 (4): 473-477.
- Cruz, V., C. Walters and D. Dierig. 2013. Dormancy and after-ripening response of seeds from natural populations and conserved *Physaria* (syn. *Lesquerella*) germplasm and their association with environmental and plant parameters. *Industrial Crops and Products* 45: 191-199.
- De la Cruz, J., E. López, C. Zavaleta, W. Mendoza y A. Gonza. 2013. Efecto de la estratificación en la germinación de semillas del ciruelo europeo, *Prunus domestica*. *Rebiolest* 1 (1): 49-53.
- De Souza, M., F. Maria, y M. Pérez. 2006. Soil seed Banks. *Agroscientia*. 23 (1): 33-44.
- Derkx, M. and C. Karssen. 1993. Effects of light and temperature on seed dormancy and gibberellin-stimulated germination in *Arabidopsis thaliana*: studies with gibberellin-deficient and -insensitive mutants. *Physiologia Plantarum* 89 (2): 360-368.
- Fernández, G. y M. Johnston. 2006. Crecimiento y temperatura. (cap. 20, pp.1-28). En: Squeo, F. and L. Cardemil. (Eds.). *Fisiología Vegetal*. La Serena, Chile: Universidad de La Serena 374 p.
- Figueroa, J. y F. Jaksic. 2004. Latencia y banco de semillas en plantas de la región mediterránea de Chile central. *Revista Chilena de Historia Natural* 77: 201-215.

- Finch-Savage, W. and G. Leubner-Metzger. 2006. Seed dormancy and the control of Germination. *New Phytologist* 171 (3): 501–523.
- García, F. 2005. Latencia de Yemas y Semillas. [en línea]. Valencia, España: Universidad Politécnica de Valencia. Recuperado en: http://www.euita.upv.es/varios/biologia/Temas/tema_16.htm#Latencia de yemas. Consultado el 5 de enero de 2012.
- Goedert, C. and E. Roberts. 1986. Characterization of alternating-temperature regimes that remove seed dormancy in seeds of *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweickhardt. *Plant, Cell & Environment* 9 (7): 521-525.
- Hartman, H.; D. Kester; F. Davies and R. Geneve. 1997. Plant propagation. Principles and practices. 8^a edition. New Jersey, USA: Prentice Hall. 912 p.
- Hidayati, S., J. Baskin and C. Baskin. 2000. Morphophysiological Dormancy in Seeds of Two North American and One Eurasian Species of *Sambucus* (Caprifoliaceae) with Underdeveloped Spatulate Embryos. *American Journal of Botany* 87 (11): 1669-1678.
- Inácio, M., R. Moraes, P. Mendonça¹, L. Morel, S. França, B. Bertoni, A. Pereira. 2013. Phenolic Compounds Influence Seed Dormancy of *Palicourea rigida* H.B.K. (Rubiaceae), a Medicinal Plant of the Brazilian Savannah. *American Journal of Plant Sciences* 4: 129-133.
- Jurado, E. y J. Flores. 2005. Is seed dormancy under environmental control or bound to plant traits? *Journal Vegetation Science* 16: 559–564.
- Khan, M. and A. Ungar. 1986. Inhibition of Germination in *Atriplex triangularis* Seeds by Application of Phenols and Reversal of Inhibition by Growth Regulators. *Botanical Gazette* 147 (2): 148-151.
- Kim, J.; M. De Jeu; K. Raemakers; E. Jacobsen and R. Visser. 2001. In vitro studies on callus induction in both vegetative and generative parts in *Alstroemeria* for further application to transformation. *Acta Horticulturae* 560: 437-439.
- King, J and M. Bridgen. 1990. Environmental and genotypic regulation of *Alstroemeria*, seed germination. *HortScience* 25 (12): 1607-1609.
- Kong, L., F. Wang, J. Si, B. Feng and S. Li. 2008. Water-Soluble Phenolic Compounds in the Coat Control Germination and Peroxidase Reactivation in *Triticum aestivum* Seeds. *Plant Growth Regulators* 56 (3) 275-283.
- Lauenroth W.; H. Epstein; J. Paruelo; I. Burke; M. Aguiar y O. Sala. 2004. Potential effects of climate change on the temperate zones of North and South America. *Revista Chilena de Historia Natural* 77(3): 439-453.

- Leon, R., D. Bassham and M. Owen. 2006. Germination and proteome analyses reveal intraspecific variation in seed dormancy regulation in common waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*). *Weed Science* 54 (2): 305-315.
- Lin, H., M. De Jeu and E. Jacobsen. 2000. The application of leafy explant micropropagation protocol in enhancing the multiplication efficiency of *Alstroemeria*. *Scientia Horticulturae* 85(4): 307-318.
- Loksha, R., S. Hedge, R. Shaanker and K. Ganeshiah. 1992. Dispersal mode as a selective force in shaping the chemical composition of seed. *American Naturalist* 140 (3): 520-525.
- López, A. 2008. Efecto de distintos niveles de luminosidad sobre la composición fenólica y la expresión génica de enzimas de la ruta fenilpropanoide en bayas de var. Carménère. Memoria de Ingeniero Agrónomo. Santiago, Chile. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Escuela de agronomía. 53 h.
- Machuca, A. 2006. Efecto de la estratificación de embriones y escarificación de semillas sobre el crecimiento de *Alstroemeria spp.* in vitro. Memoria de Ingeniero Agrónomo. Santiago, Chile. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Escuela de Agronomía. 21 h.
- Mayor, P., M. Escudero, M. Catalá y J. Costra. 2002. Conservación de recursos fitogenéticos agrícolas. *Agrícola Vergel*. 21(245):273-277.
- Milberg, P., L. Andersson and K. Thompson, 2000. Largeseeded species are less dependent on light for germination than small-seeded ones. *Seed Science Research* 10: 99-104.
- Mohamed A., S. El-Yazal, M. M-Rady. 2014. Exogenous onion extract hastens bud break, positively alters enzyme activity, hormone, amino acids and phenol contents, and improves fruit quality in ‘Anna’ apple trees. *Scientia Horticulturae* 169: 154–160.
- Moore, R. (Ed.). 1985. Manual de ensayos al tetrazolio. Zürich, Switzerland: The International Seed Testing Association. 72 p.
- Muñoz, M. y A. Moreira. 2003. *Alstroemerias de Chile: diversidad, distribución y conservación*. Santiago, Chile: Taller La Era. 140 p.
- Muñoz, M., A. Moreira y V. Morales. 2011. Validación de *Alstroemeria parvula* Phil. (*Alstroemeriaceae*). *Gayana Botánica* 68 (1):114-116.
- Nasri, F., N. Ghaderi, J. Mohammadi, S. Najmedin and M. Koshesh. 2013. The Effect of Gibberellic Acid and Stratification on Germination of *Alstroemeria (Alstroemeria ligtu hybrid)* Seed Under In Vitro and In Vivo Conditions. *Journal of Ornamental Plants* 3 (4): 221-228.

- Nasri, F., M. Koshesh, N. Ghaderi, A. Akbar and T. Javadi. 2014. Improving Germination And Dormancy Breaking In *Alstromeria ligtu* hybrid Seeds. *Trakia Journal of Sciences* 12 (1): 38-46.
- Pardini, A. 2007. Perspectiva sobre la valorización de los sistemas agrosilvopastoriles en la cuenca del Mediterráneo. *Pastos y Forrajes* 30(1): 1-1.
- Peñaloza, P. 2001. Semillas de Hortalizas: Manual de Producción. Ed. Universitarias de Valparaíso. Universidad Católica de Valparaíso, Chile. 147 p.
- Pereira, C., E. Pinho, D. Oliveira and A. Kikuti. 2002. Germination Inhibitors Determination in the Spermoderm of Coffee (*Coffea Arabica* L.) Seeds. *Revista Brasileira de Sementes* 24 (1): 306-311.
- Phillips, N.; D. Drost; W. Varga and L. Shultz. 2011. Demography, reproduction, and dormancy along altitudinal gradients in three intermountain *Allium* species with contrasting abundance and distribution. *Flora- Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 206 (2): 164–171.
- Ponquett, R., M. Smith, and G. Ross. 1992. Lipid autoxidation and seed ageing: putative relationships between seed longevity and lipid stability. *Seed Science Research* 2: 51-54.
- R Core Team. 2014. R: A language and environmental for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Australia. Recuperado en <http://www.R-project.org/>. Consultado el 7 de Julio de 2015.
- Raisi, A., S. Nabavi, and A. Sohani. 2013. The Study Effects of Stratification, Temperature and Potassium Nitrate on Seed Dormancy Breaking *Ferula assa-foetida*. *World Applied Sciences Journal* 21 (3): 379-383.
- Rees, M. 1993. Trade-offs among dispersal strategies in the British flora. *Nature* 366: 150-152.
- Rees, M. 1996. Evolutionary ecology of seed dormancy and seed size. *Philosophical transactions: biological sciences* 351: 1299-1308.
- Ríos, J., y A. Mangione, 2010. Respuesta disuasiva del granívoro *Zonotrichia capensis* (Paseriformes: Emberizidae) frente a fenoles comunes en las semillas. *Ecologia Austral* 20: 215-221.
- Sánchez, J.; J. Reino; B. Muñoz; Y. Gonzalez y L. Montejo. 2011. Combined effect of scarification and temperature on the germination of herbaceous legume seeds. *Pastos y Forrajes* 34 (2): 179–184.
- Shaver, T., G. Peterson, L. Ahuja, D. Westfall, L. Sherrod and G. Dunn. 2002. Surface Soil Physical Properties After Twelve Years of Dryland No-Till Management. *Soil Science Society of America Journal* 66 (4): 1296-1303.

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

Tansley, A. 1935. The Use and Abuse of Vegetational Concepts and Terms. *Ecological Society of America* 16 (3): 284-307.

Thompson, D., T. Edwards and J. Van Staden. 2001. In Vitro Germination of Several South African Summer Rainfall Disa (Orchidaceae) Species: Is Seed Testa Structure a Function of Habitat and a Determinant of Germinability? *Systematics and Geography of Plants* 71 (2): 597-606.

Torada, A. and Y. Amano. 2002. Effect of seed coat color on seed dormancy in different environments. *Euphytica* 126: 99–105.

Totterdell, S. and E. Roberts. 1979. Effects of low temperatures on the loss of innate dormancy and the development of induced dormancy in seeds of *Rumex obtusifolius* L. and *Rumex crispus* L. *Plant, Cell & Environment* 2 (2): 131-137.

Valares, C. 2011. Variación del metabolismo secundario en plantas debida al genotipo y al ambiente. Tesis Doctoral. Badajoz, España. Departamento de Biología Vegetal, Ecología y Ciencias de la Tierra, Universidad de Extremadura. 216 h.

Wang, B. and J. Chen. 2008. Tannin concentration enhances seed caching by scatter-hoarding rodents: An experiment using artificial 'seeds'. *Acta Oecologica* 34: 379–385.

Watanabe, N. and N. Ikebata. 2000. The effects of homoeologous group 3 chromosomes on grain colour dependent seed dormancy and brittle rachis in tetraploid wheat. *Euphytica* 115: 215–220.

Willan, R. 1991. Guía para la manipulación de semillas forestales. [en línea]. Chile: FAO. Recuperado en: <http://www.fao.org/docrep/006/ad232s/ad232s12.htm>. Consultado el 20 de abril de 2015.

Willemsen, R. and E. Rice. 1972. Mechanism of Seed Dormancy in *Ambrosia artemisiifolia*. *American Journal of Botany* 59 (3) 248-257.

Worldclim. Global Climate Data. [en línea]. Recuperado en <http://www.worldclim.org/>. Consultado el 20 de abril 2015.

Young, J. and C. Young. 1992. Seeds of woody plants in North America. Portland, Oregon: Dioscorides Press. 407 p.

Zhou, Z; W. Bao and N. Wu. 2009. Dormancy and germination in *Rosa multibracteata* Hemsl. & E. H. Wilson. *Scientia Horticulturae* 119 (4): 434–441.

Zhou, Z. and W. Bao. 2011. Levels of physiological dormancy and methods for improving seed germination of four rose species. *Scientia Horticulturae* 129 (4): 818–824.

10. Apéndices

10.1. Espectros de absorción de las semillas de especies de alstroemeria sometidas a HPLC.

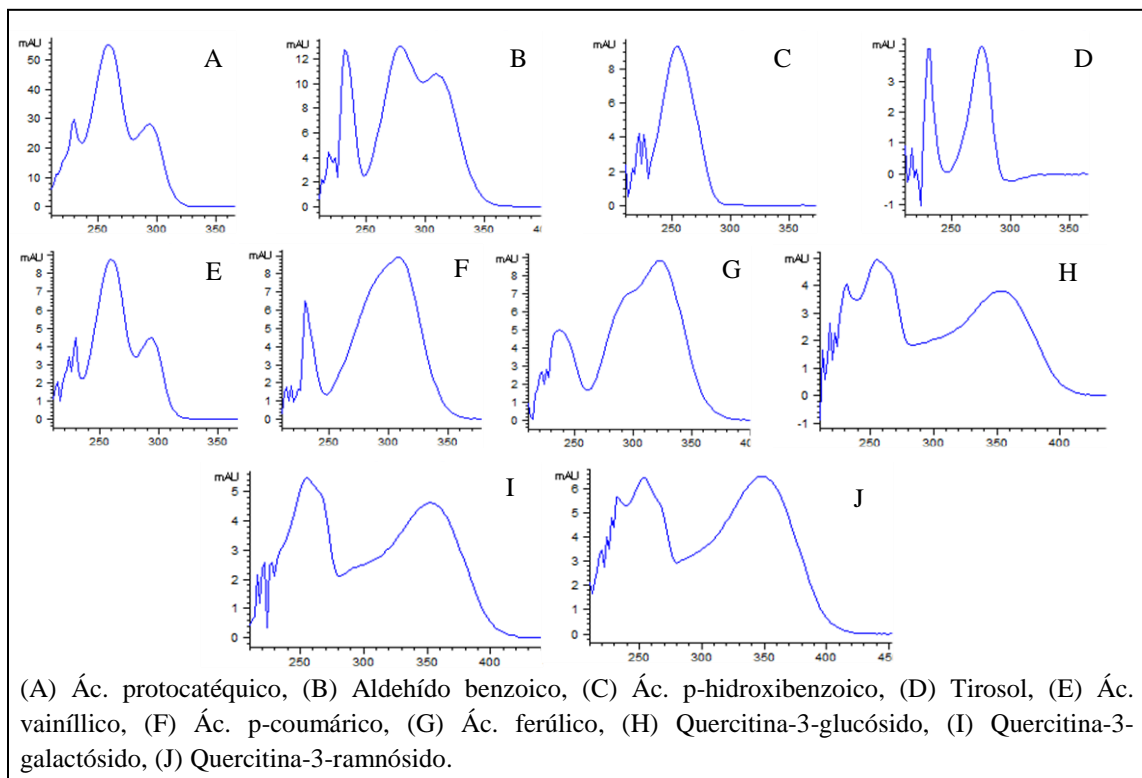


Figura 10. Espectros de absorción asociado a los principales compuestos fenólicos de bajo peso molecular reconocidos en la especie *A. hookeri ssp. maculata* Bayer.

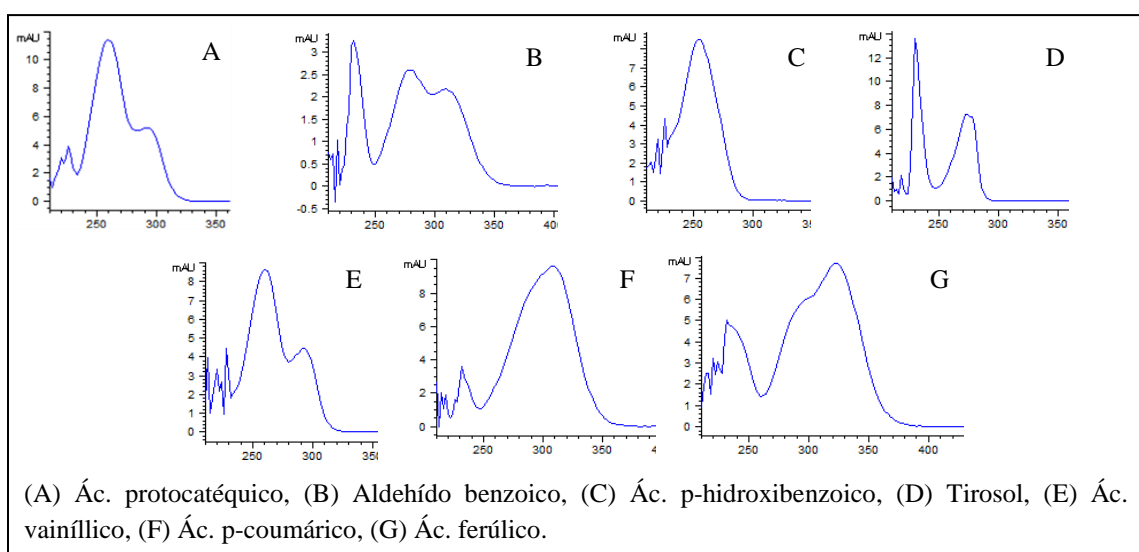


Figura 11. Espectros de absorción asociado a los principales compuestos fenólicos de bajo peso molecular reconocidos en la especie *A. pulchra var. maxima*.

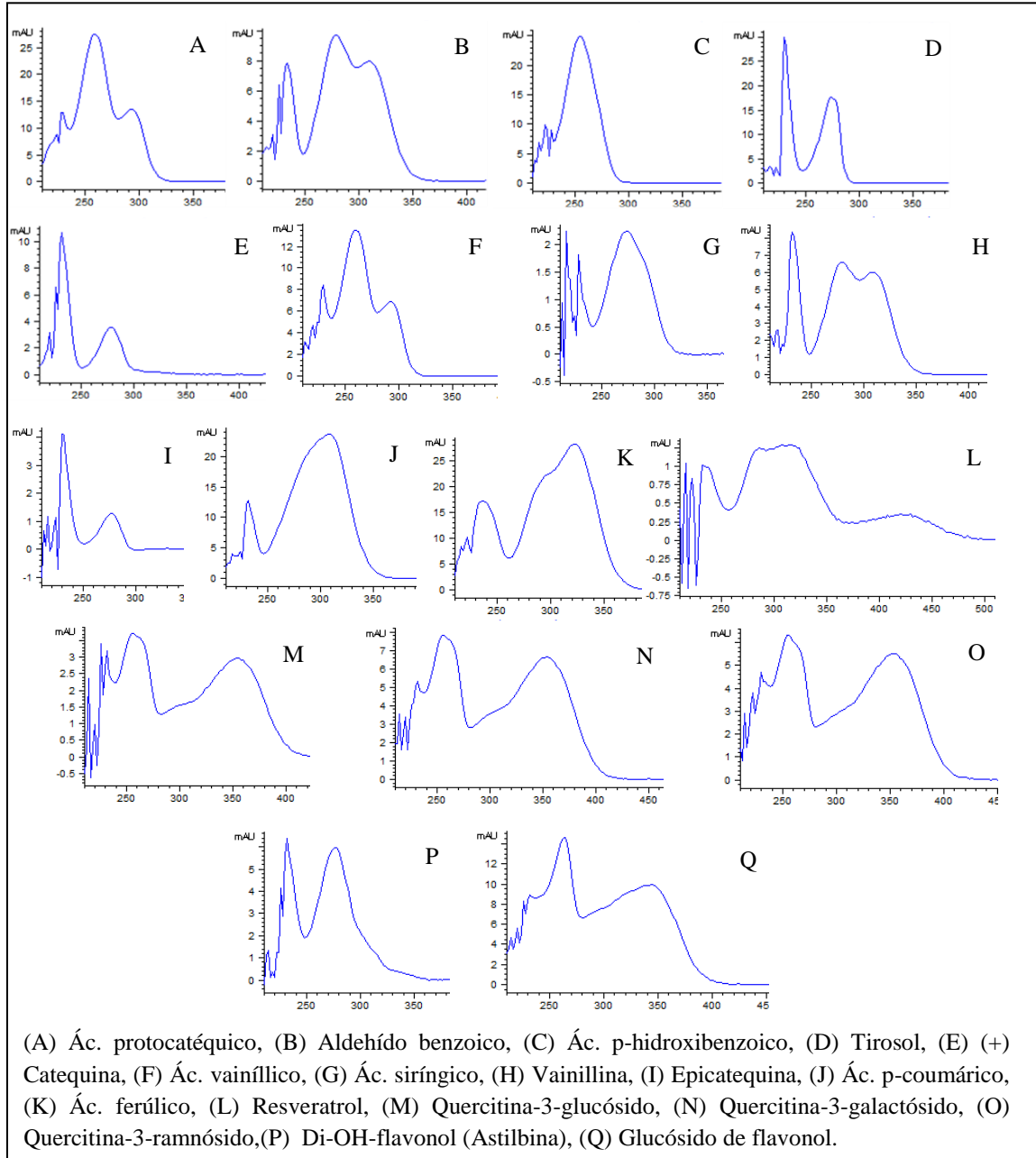


Figura 12. Espectros de absorción asociado a los principales compuestos fenólicos de bajo peso molecular reconocidos en la especie *A. angustifolia var. angustifolia*.

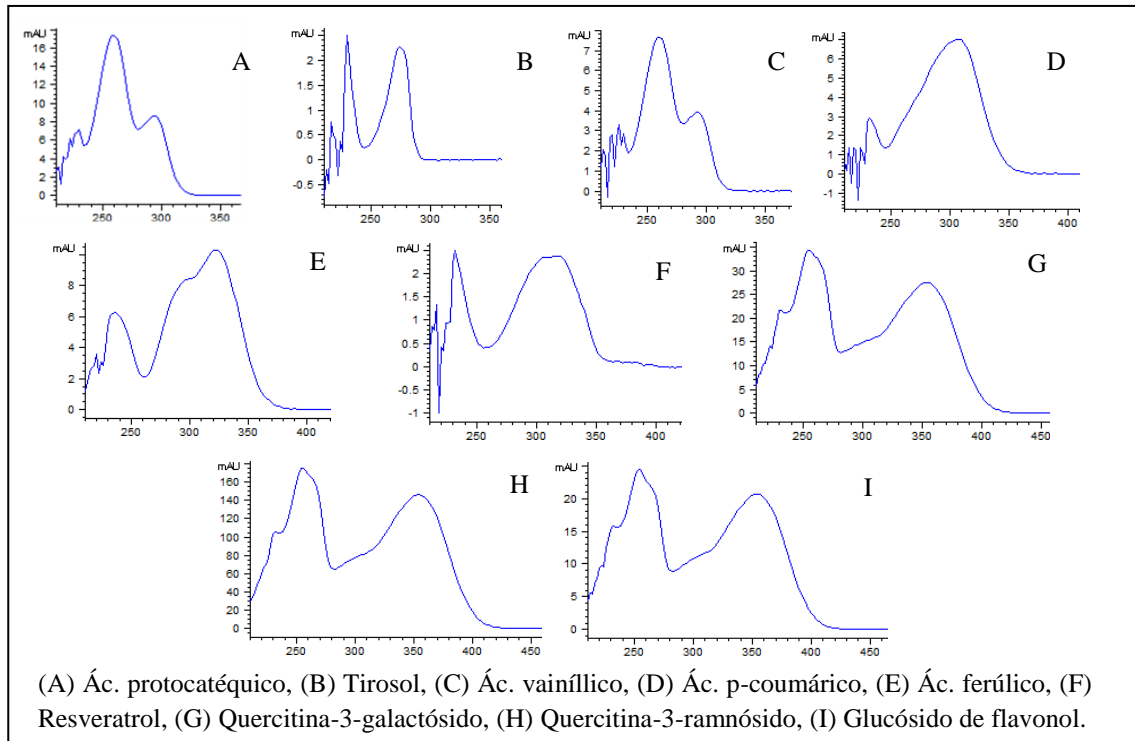


Figura 13. Espectros de absorción asociado a los principales compuestos fenólicos de bajo peso molecular reconocidos en la especie *Alstroemeria pelegrina*.

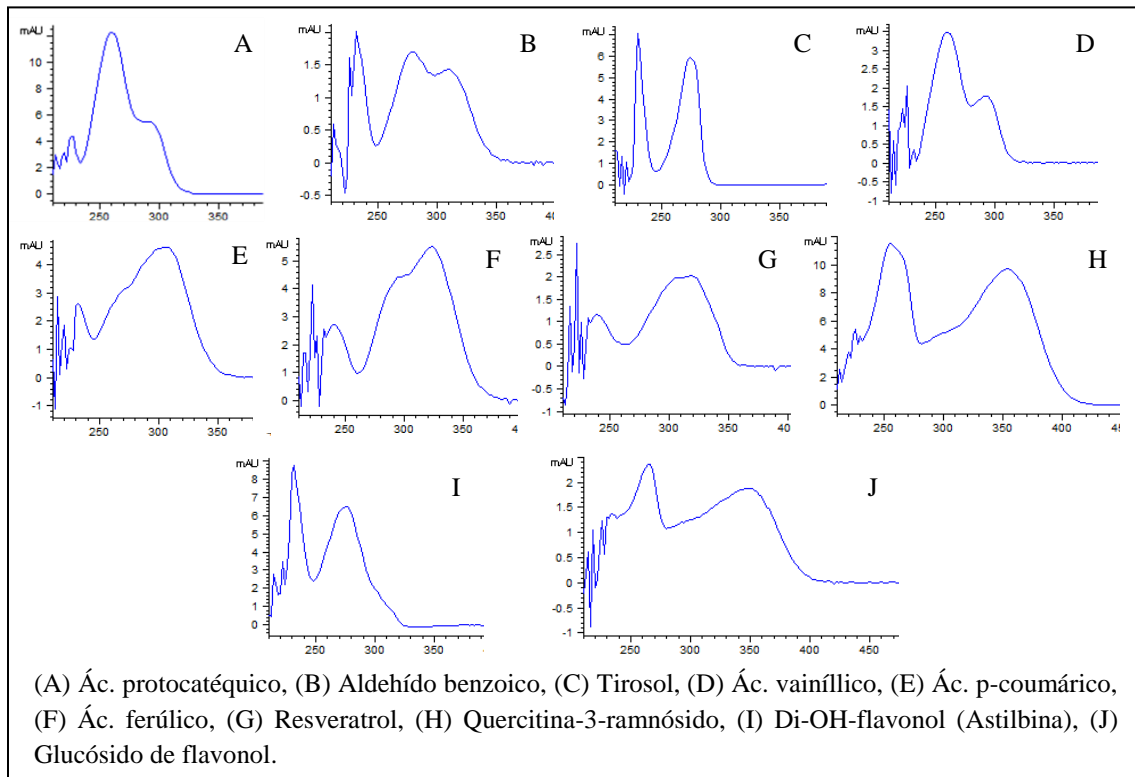


Figura 14. Espectros de absorción asociado a los principales compuestos fenólicos de bajo peso molecular reconocidos en la especie *A. ligtu ssp. simsii*.

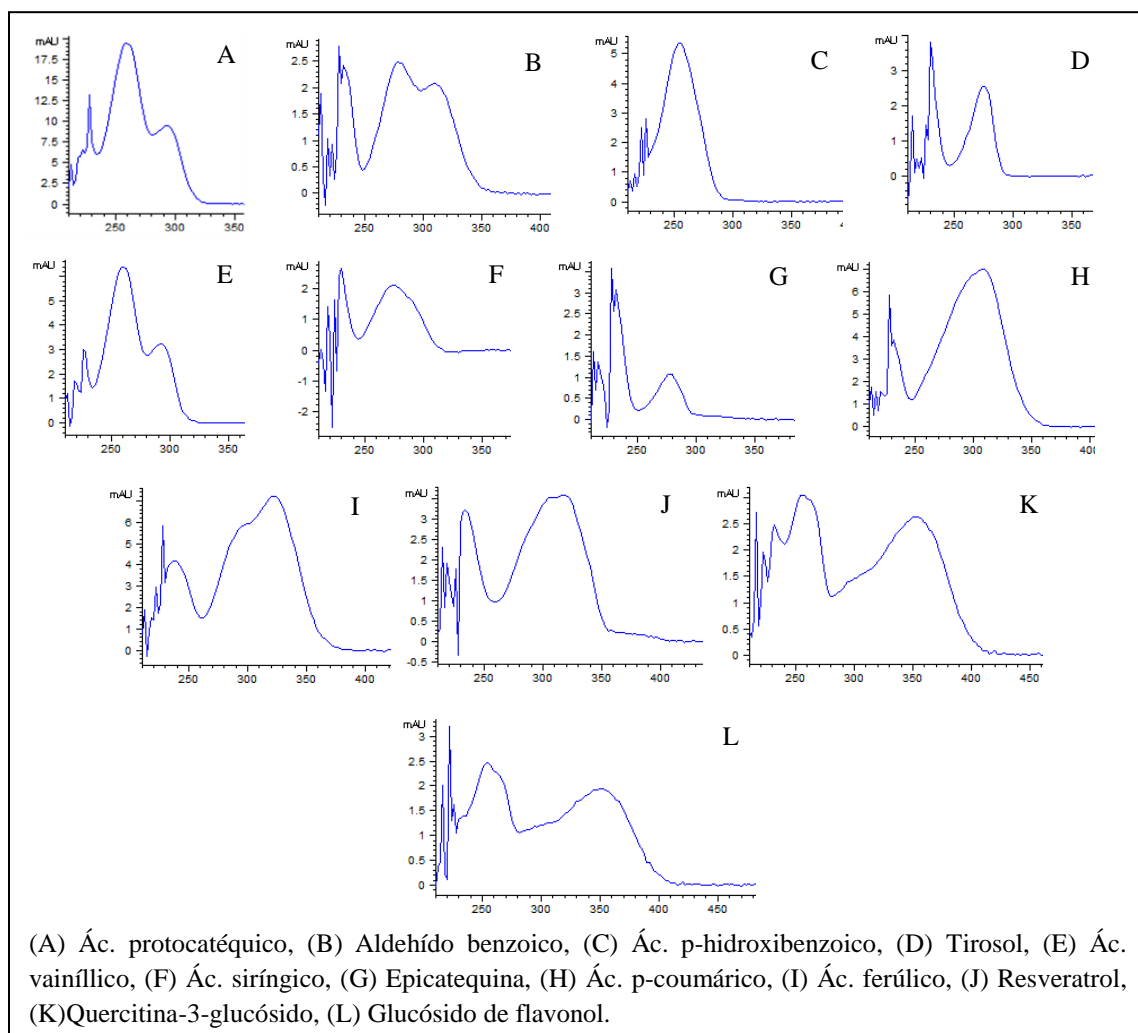


Figura 15. Espectros de absorción asociado a los principales compuestos fenólicos de bajo peso molecular reconocidos en la especie *A. umbellata* Meyen.

10.2. Análisis de varianza para características morfológicas

10.2.1. Diámetro

Medidas de ajuste del Modelo

Variable	N	R ²	R ² ajus	CV
diámetro	300	0,66	0,65	10,45

Prueba de hipótesis

FV	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	48,42	9	5	62	0
especie	48,42	9	5	62	0
Error	25,24	290	0		
Total	73,66	299			

Test: DGC Alfa=0,05

Especie	Diámetro	N	EE	
<i>A. pelegrina</i>	3,43	30	0,05	A
<i>A. ligtu</i>	3,27	30	0,05	B
<i>A. umbellata</i>	3,22	30	0,05	B
<i>A. pseudosphathulata</i>	2,95	30	0,05	C
<i>A. angustifolia</i>	2,94	30	0,05	C
<i>A. maxima</i>	2,84	30	0,05	C
<i>A. pallida</i>	2,63	30	0,05	D
<i>A. hookeri</i>	2,47	30	0,05	E
<i>A. magenta</i>	2,29	30	0,05	F
<i>A. pulchra</i>	2,18	30	0,05	F

10.2.2. Peso

Medidas de ajuste del Modelo

Variable	N	R²	R²ajus	CV
peso	29	1	1	2,51

Prueba de hipótesis

FV	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	16,66	9	2	794	0
Especie	16,66	9	2	794	0
Error	0,04	19	0		
Total	16,71	28			

Test: DGC Alfa=0,05

Especie	Masa 100 sem	n	EE	
<i>A. ligtu</i>	3,12	3	0,03	A
<i>A. umbellata</i>	2,99	3	0,03	B
<i>A. pelegrina</i>	2,64	3	0,03	C
<i>A. pseudoespatulata</i>	2,17	2	0,03	D
<i>A. angustifolia</i>	1,86	3	0,03	E
<i>A. pallida</i>	1,72	3	0,03	F
<i>A. máxima</i>	1,68	3	0,03	F
<i>A. hookeri</i>	1,28	3	0,03	G
<i>A. pulchra</i>	0,99	3	0,03	H
<i>A. magenta</i>	0,9	3	0,03	I

10.3. Análisis de varianza para el primer y segundo mes de germinación

10.3.1. Germinación al primer mes

Medidas de ajuste del Modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R²_0	R²_1	R²_2
179	775,59	956,23	-322,80	7,40	0,97	0,97	0,97

Prueba de hipótesis

	numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	99	234,64	<0.0001
especie	9	18	58,70	<0.0001
subparcela	5	99	40,45	<0.0001
especie:subparcela	45	99	94,71	<0.0001

Test: DGC Alfa=0,05

Sub-parcela	Especie	Medias	E.E.	
LF13°	<i>A. pelegrina</i>	98.33	29.61	A
LF13°	<i>A. angustifolia</i>	91.67	29.61	A
LF13°	<i>A. ligtu</i>	81.67	29.61	B
LF13°	<i>A. hookeri</i>	80.00	4.39	B
SD	<i>A. pelegrina</i>	78.33	4.28	B
LF1°	<i>A. angustifolia</i>	55.00	4.28	C
F13°	<i>A. angustifolia</i>	51.67	4.28	C
F13°	<i>A. hookeri</i>	46.67	0.66	C
LF13°	<i>A. umbellata</i>	40.00	4.39	D

LS	<i>A. pellegrina</i>	38.33	4.28	D
LF1°	<i>A. ligtu</i>	35.00	4.28	D
LF13°	<i>A. magenta</i>	31.67	4.39	D
LF13°	<i>A. pallida</i>	26.67	4.39	D
LF13°	<i>A. pulchra</i>	18.33	4.39	E
LF13°	<i>A. máxima</i>	16.67	4.39	E
F13°	<i>A. pelegrina</i>	13.33	4.28	E
F1°	<i>A. pelegrina</i>	11.67	4.28	E
F13°	<i>A. pulchra</i>	10.00	0.66	E
LF1°	<i>A. umbellata</i>	6.67	0.66	F
LS	<i>A. angustifolia</i>	5.00	4.28	F
LF1°	<i>A. pelegrina</i>	3.33	4.28	F
F13°	<i>A. ligtu</i>	1.67	4.28	F
F13°	<i>A. máxima</i>	1.67	0.66	F
SD	<i>A. hookeri</i>	1.67	0.66	F
LF1°	<i>A. pallida</i>	1.67	0.66	F
LS	<i>A. ligtu</i>	1.67	4.28	F
SD	<i>A. pseudoespathulata</i>	0.00	0.81	F
SD	<i>A. angustifolia</i>	0.00	4.28	F
LS	<i>A. pseudoespathulata</i>	0.00	0.66	F
SD	<i>A. magenta</i>	0.00	0.66	F
SD	<i>A. pallida</i>	0.00	0.66	F
SD	<i>A. máxima</i>	0.00	0.66	F
LS	<i>A. maxima</i>	0.00	0.66	F
LS	<i>A. pallida</i>	0.00	0.66	F
F1°	<i>A. pallida</i>	0.00	0.66	F
LS	<i>A. magenta</i>	0.00	0.66	F
LS	<i>A. hookeri</i>	0.00	0.66	F
LS	<i>A. umbellata</i>	0.00	0.66	F
F1°	<i>A. hookeri</i>	0.00	0.66	F
F1°	<i>A. magenta</i>	0.00	0.66	F
SD	<i>A. ligtu</i>	0.00	4.28	F
F13°	<i>A. pseudoespathulata</i>	0.00	0.66	F
LS	<i>A. pulchra</i>	0.00	0.66	F
SD	<i>A. umbellata</i>	0.00	0.66	F
F1°	<i>A. maxima</i>	0.00	0.66	F
F1°	<i>A. umbellata</i>	0.00	0.66	F
F1°	<i>A. pseudoespathulata</i>	0.00	0.66	F
F13°	<i>A. pallida</i>	0.00	0.66	F
F13°	<i>A. magenta</i>	0.00	0.66	F

F13°	<i>A. umbellata</i>	0.00	0.66	F
SD	<i>A. pulchra</i>	0.00	0.66	F
F1°	<i>A. pulchra</i>	0.00	0.66	F
LF1°	<i>A. hookeri</i>	0.00	0.66	F
F1°	<i>A. ligtu</i>	0.00	4.28	F
LF1°	<i>A. maxima</i>	0.00	0.66	F
LF1°	<i>A. pseudoespathulata</i>	0.00	0.66	F
LF1°	<i>A. pulchra</i>	0.00	0.66	F
LF1°	<i>A. magenta</i>	0.00	0.66	F
LF13°	<i>A. pseudoespathulata</i>	0.00	4.39	F
F1°	<i>A. angustifolia</i>	0.00	4.28	F

10.3.2. Germinación al segundo mes

Medidas de ajuste del Modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R ² _0	R ² _1	R ² _2
179	803.73	987.15	-335.87	6.30	0.97	0.97	0.97

Prueba de hipótesis

	numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	99	144.62	<0.0001
especie	9	18	44.61	<0.0001
subparcela	5	99	22.14	<0.0001
especie:subparcela	45	99	36.00	<0.0001

Test: DGC Alfa=0,05

Sub-parcela	Especie	Medias	E.E.	
SD	<i>A. pelegrina</i>	98.33	15.91	A
LF13°	<i>A. pelegrina</i>	98.33	52.51	A
LS	<i>A. pelegrina</i>	93.33	14.76	A
LF13°	<i>A. angustifolia</i>	91.67	47.51	A
LF13°	<i>A. ligtu</i>	83.33	41.93	B
LF13°	<i>A. hookeri</i>	81.67	7.52	B
LF13°	<i>A. umbellata</i>	61.67	5.57	C
LF1°	<i>A. angustifolia</i>	60.00	8.95	C
F13°	<i>A. angustifolia</i>	55.00	8.31	C
F13°	<i>A. hookeri</i>	50.00	1.42	D
LF1°	<i>A. ligtu</i>	38.33	6.47	E

LF13°	<i>A. magenta</i>	31.67	3.55	F	
SD	<i>A. angustifolia</i>	30.00	5.71	F	
F1°	<i>A. pelegrina</i>	26.67	5.43	F	
F13°	<i>A. pelegrina</i>	26.67	5.43	F	
LF13°	<i>A. pallida</i>	26.67	3.30	F	
LF13°	<i>A. pulchra</i>	20.00	2.98		G
LF13°	<i>A. maxima</i>	16.67	2.84		G
F13°	<i>A. pulchra</i>	10.00	0.78		G
LS	<i>A. angustifolia</i>	10.00	4.23		G
LF1°	<i>A. umbellata</i>	8.33	0.76		G
SD	<i>A. hookeri</i>	8.33	0.76		G
F1°	<i>A. angustifolia</i>	5.00	3.92		H
LS	<i>A. ligtu</i>	5.00	3.92		H
F1°	<i>A. ligtu</i>	5.00	3.92		H
LF1°	<i>A. pelegrina</i>	5.00	3.92		H
LF13°	<i>A. pseudoespathulata</i>	4.45	2.36		H
SD	<i>A. ligtu</i>	3.33	3.83		H
SD	<i>A. umbellata</i>	1.67	0.69		H
F13°	<i>A. ligtu</i>	1.67	3.73		H
F13°	<i>A. máxima</i>	1.67	0.69		H
LF1°	<i>A. pallida</i>	1.67	0.69		H
SD	<i>A. pseudoespathulata</i>	0.00	0.82		H
F1°	<i>A. hookeri</i>	0.00	0.67		H
LF1°	<i>A. maxima</i>	0.00	0.67		H
F1°	<i>A. pallida</i>	0.00	0.67		H
F1°	<i>A. pseudoespathulata</i>	0.00	0.67		H
F1°	<i>A. umbellata</i>	0.00	0.67		H
LF1°	<i>A. pulchra</i>	0.00	0.67		H
SD	<i>A. pallida</i>	0.00	0.67		H
LS	<i>A. umbellata</i>	0.00	0.67		H
LS	<i>A. pallida</i>	0.00	0.67		H
LS	<i>A. pseudoespathulata</i>	0.00	0.67		H
LF1°	<i>A. hookeri</i>	0.00	0.67		H
F1°	<i>A. máxima</i>	0.00	0.67		H
LS	<i>A. hookeri</i>	0.00	0.67		H
F13°	<i>A. pallida</i>	0.00	0.67		H
F13°	<i>A. umbellata</i>	0.00	0.67		H
F1°	<i>A. pulchra</i>	0.00	0.67		H
LF1°	<i>A. pseudoespathulata</i>	0.00	0.67		H
LF1°	<i>A. magenta</i>	0.00	0.67		H

LS	<i>A. máxima</i>	0.00	0.67	H
LS	<i>A. magenta</i>	0.00	0.67	H
F13°	<i>A. pseudoespathulata</i>	0.00	0.67	H
SD	<i>A. máxima</i>	0.00	0.67	H
SD	<i>A. pulchra</i>	0.00	0.67	H
F13°	<i>A. magenta</i>	0.00	0.67	H
SD	<i>A. magenta</i>	0.00	0.67	H
F1°	<i>A. magenta</i>	0.00	0.67	H
LS	<i>A. pulchra</i>	0.00	0.67	H

10.4. Análisis de varianza para la velocidad de germinación

Medidas de ajuste del Modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2_0	R2_1	R2_2
180	198,73	379,92	-34,37	0,12	0,97	0,97	0,97

Prueba de hipótesis

	numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	108	3,93	0,05
Especie	9	108	16,15	<0,0001
Tratamiento	5	10	19,19	0,0001
Especie:Tratamiento	45	108	11,02	<0,0001

Test: DGC Alfa=0,05

Especie	Tratamiento	Medias	E.E.	
<i>A. pelegrina</i>	LF13°	11,48	34,93	A
<i>A. ligtu</i>	LF13°	8,61	7,4	A
<i>A. angustifolia</i>	LF13°	8,09	5,6	A
<i>A. hookeri</i>	LF13°	7,97	5,25	A
<i>A. hookeri</i>	F13°	4,38	1,16	A
<i>A. angustifolia</i>	F13°	4,37	1,15	A
<i>A. angustifolia</i>	LF1°	3,59	0,7	A
<i>A. pelegrina</i>	SD	3,37	0,61	A
<i>A. magenta</i>	LF13°	3,35	0,43	A
<i>A. pelegrina</i>	LS	2,48	0,34	A
<i>A. umbellata</i>	LF13°	2,16	0,23	A
<i>A. pallida</i>	LF13°	2,05	0,21	A
<i>A. ligtu</i>	LF1°	1,89	0,24	A

<i>A. pulchra</i>	LF13°	1,76	0,18	A	
<i>A. maxima</i>	LF13°	1,54	0,16	A	
<i>A. pulchra</i>	F13°	1,45	0,18	A	
<i>A. pelegrina</i>	F13°	0,84	0,12		B
<i>A. pelegrina</i>	F1°	0,74	0,11		B
<i>A. angustifolia</i>	SD	0,6	0,1		B
<i>A. umbellata</i>	LF1°	0,27	0,08		C
<i>A. angustifolia</i>	LS	0,26	0,08		C
<i>A. hookeri</i>	SD	0,2	0,08		C
<i>A. pelegrina</i>	LF1°	0,2	0,08		C
<i>A. ligtu</i>	LS	0,13	0,08		C
<i>A. maxima</i>	F13°	0,12	0,08		C
<i>A. ligtu</i>	F1°	0,12	0,08		C
<i>A. pallida</i>	LF1°	0,11	0,08		C
<i>A. pseudoespathulata</i>	LF13°	0,11	0,07		C
<i>A. angustifolia</i>	F1°	0,1	0,08		C
<i>A. ligtu</i>	F13°	0,09	0,07		C
<i>A. ligtu</i>	SD	0,07	0,07		C
<i>A. umbellata</i>	SD	0,03	0,07		C
<i>A. maxima</i>	LF1°	2,00E-07	0,07		C
<i>A. pulchra</i>	LF1°	2,00E-07	0,07		C
<i>A. hookeri</i>	LF1°	2,00E-07	0,07		C
<i>A. pseudoespathulata</i>	LF1°	2,00E-07	0,07		C
<i>A. magenta</i>	LF1°	2,00E-07	0,07		C
<i>A. umbellata</i>	F13°	2,00E-07	0,07		C
<i>A. pallida</i>	F13°	2,00E-07	0,07		C
<i>A. pseudoespathulata</i>	F13°	2,00E-07	0,07		C
<i>A. magenta</i>	F13°	2,00E-07	0,07		C
<i>A. pallida</i>	SD	2,00E-07	0,07		C
<i>A. magenta</i>	SD	2,00E-07	0,07		C
<i>A. pseudoespathulata</i>	SD	2,00E-07	0,07		C
<i>A. maxima</i>	SD	2,00E-07	0,07		C
<i>A. pulchra</i>	SD	2,00E-07	0,07		C
<i>A. pallida</i>	LS	2,00E-07	0,07		C
<i>A. pulchra</i>	LS	2,00E-07	0,07		C
<i>A. hookeri</i>	LS	2,00E-07	0,07		C
<i>A. pseudoespathulata</i>	LS	2,00E-07	0,07		C
<i>A. maxima</i>	LS	2,00E-07	0,07		C
<i>A. magenta</i>	LS	2,00E-07	0,07		C
<i>A. umbellata</i>	LS	2,00E-07	0,07		C

<i>A. pseudoespathulata</i>	F1°	2,00E-07	0,07	C
<i>A. pallida</i>	F1°	2,00E-07	0,07	C
<i>A. pulchra</i>	F1°	2,00E-07	0,07	C
<i>A. hookeri</i>	F1°	2,00E-07	0,07	C
<i>A. umbellata</i>	F1°	2,00E-07	0,07	C
<i>A. maxima</i>	F1°	2,00E-07	0,07	C
<i>A. magenta</i>	F1°	2,00E-07	0,07	C

10.5. Viabilidad prueba de tetrazolio

Especie	Viabilidad (%)
<i>A. pelegrina</i>	95
<i>A. angustifolia</i>	85
<i>A. hookeri ssp. maculata</i>	90
<i>A. ligtu ssp. simsii</i>	80
<i>A. umbellata</i> Meyen	95
<i>A. magnifica ssp. magenta</i>	75
<i>A. pallida</i> Graham	75
<i>A. pulchra ssp. pulchra</i>	70
<i>A. pulchra var. maxima</i>	100
<i>A. pseudospathulata</i> Bayer	60

10.6. Regresiones

10.6.1. Regresión peso y diámetro

Medidas de ajuste del Modelo

Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP	AIC	BIC
Peso	10	0,89	0,87	0,13	6,87	7,77

Prueba de hipótesis

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	4,94	1	4,94	61,91	<0,0001
Diámetro	4,94	1	4,94	61,91	<0,0001
Error	0,64	8	0,08		
Total	5,58	9			

10.6.2. Regresión viabilidad y tamaño de semilla

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0,41147873
Coefficiente de determinación R ²	0,16931475
R ² ajustado	0,06547909
Error típico	12,3231346
Observaciones	10

ANÁLISIS DE VARIANZA

	<i>G.L.</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Regresión	1	247,622821	247,622821	1,63060316	0,23743393
Residuos	8	1214,87718	151,859647		
Total	9	1462,5			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>
Intercepción	47,56042	27,6378398	1,72084433	0,12358722	-16,172553	111,2933929
Diámetro	12,381141	9,69586436	1,27695073	0,23743393	-9,97756226	34,73984435

10.6.3. Regresión viabilidad y tamaño de semilla

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0,03842183
Coefficiente de determinación R ²	0,00147624
R ² ajustado	-0,12333923
Error típico	0,44902329
Observaciones	10

ANÁLISIS DE VARIANZA

	<i>G.L.</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Regresión	1	0,00238465	0,00238465	0,01182736	0,9160762
Residuos	8	1,61297535	0,20162192		
Total	9	1,61536			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>
Intercepción	2,77033853	0,49579996	5,58761345	0,00051768	1,62702177	3,91365529
Variable X 1	0,0120987	0,11124871	0,10875366	0,9160762	-0,24444129	0,2686387

10.6.4. Regresión fenoles y germinación

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0,09178178
Coefficiente de determinación R ²	0,0084239
R ² ajustado	-0,23947013
Error típico	42,5614429
Observaciones	6

ANÁLISIS DE VARIANZA

	<i>G.L.</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Regresión	1	61,5573036	61,5573036	0,03398184	0,86271391
Residuos	4	7245,9057	1811,47642		
Total	5	7307,463			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>
Intercepción	7,22631324	90,5593184	0,07979646	0,94023191	-244,206663	258,65929
Fenoles	4,75894713	25,8159094	0,18434164	0,86271391	-66,9175082	76,4354025

10.6.5. Regresión taninos y germinación

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0,00363297
Coefficiente de determinación R ²	1,3198E-05
R ² ajustado	-0,2499835
Error típico	42,741568
Observaciones	6

ANÁLISIS DE VARIANZA

	<i>G.L.</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Regresión	1	0,09644743	0,09644743	5,2795E-05	0,99455057
Residuos	4	7307,36655	1826,84164		
Total	5	7307,463			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>
Intercepción	23,4657178	26,4344774	0,88769366	0,42485979	-49,9281574	96,8595931
Taninos	0,01247926	1,71748905	0,00726599	0,99455057	-4,75603481	4,78099334