

Plantas nativas ornamentales de Latinoamérica

Experiencias hacia la puesta en valor

Gabriela Facciuto, Mariana Pérez de la Torre
Compiladoras

Plantas nativas ornamentales de Latinoamérica

Experiencias hacia la puesta en valor

Gabriela Facciuto, Mariana Pérez de la Torre
Compiladoras



Ministerio de Agricultura,
Ganadería y Pesca
Argentina

INTA Ediciones
Instituto de Floricultura
2021

635.9 P69 Plantas nativas ornamentales de Latinoamérica . Experiencias hacia la puesta en valor / Gabriela Facciuto, Mariana Pérez de la Torre compiladoras. – Buenos Aires : Ediciones INTA, Instituto de Floricultura, 2021. 238 p. : il. (PDF)

ISBN 978-987-679-312-4 (digital)

i.Facciuto, Gabriela. ii. Pérez de la Torre, Mariana

FLORICULTURA – PLANTAS ORNAMENTALES – GENETICA – VARIEDADES – PLANTAS NATIVAS – AMERICA LATINA

DD-INTA

Este documento es el resultado del financiamiento otorgado por el Estado Nacional, por lo tanto, queda sujeto al cumplimiento de la Ley N° 26.899.

Foto de tapa y portadas: Santiago Ariel Trupkin

Todas las fotografías e ilustraciones son originales de los autores, salvo el caso que se indique otra fuente.

Este libro

cuenta con licencia:



GERMOPLASMA NATIVO CHILENO CON POTENCIAL ORNAMENTAL: EXPERIENCIAS EN SU PROPAGACIÓN Y CARACTERIZACIÓN

Constanza Rivas¹, Danilo Aros, Marcela Toledo, Nicasio Torres, Katherina Aguirre, Carla Céspedes, Ma. Antonieta Santander, Loreto Prat.

Departamento de Producción Agrícola, Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile.

¹Autor para correspondencia: constanzarivas@u.uchile.cl

RESUMEN

Diversos autores han identificado un alto potencial ornamental y de bioprospección en el germoplasma nativo, en el cual, aún queda mucho por explorar. En este sentido, la utilización de plantas nativas supone varias ventajas sobre las plantas introducidas por su importante adaptación a condiciones edafoclimáticas adversas. El objetivo de este trabajo es presentar una recopilación de estudios realizados por el Grupo de Investigación en Floricultura (GIFLOR) de la Universidad de Chile, en cuanto a la propagación de las especies nativas chilenas: *Pasithea coerulea*, *Salpiglossis sinuata*, *Malesherbia linearifolia*, *Schizanthus hookeri* y *Junellia spathulata*. Además, dada la importancia de este atributo en el área ornamental se presenta un trabajo promisorio realizado en la caracterización de color (HPLC, espectrofotómetro y carta de colores) en *P. coerulea*. En los estudios de propagación se aplicaron diferentes técnicas de escarificación y estratificación, presencia o ausencia de luz, en el caso de las semillas, y diferentes condiciones de cultivo ex vitro e in vitro, utilizando explantes nodales vegetativos. En cuanto a la germinación, se obtuvo como mejores resultados: la combinación de escarificación con H₂SO₄ y estratificación en frío para *P. coerulea* (93%); estratificación con GA₃ en *S. sinuata* (85%); estratificación con GA₃ en *M. linearifolia* (25,6%); tratamiento en oscuridad para *S. hookeri* (86,7%). En la propagación in vitro a partir de segmentos nodales de *J. spathulata*, se obtuvo una media de 8,2 brotes activos, combinando BAP y Kinetina. La caracterización del color en *P. coerulea* permitió identificar compuestos flavonoides, aldehídos benzoicos, y ácidos hidroxicinámicos, los cuales serían responsables de la coloración y estabilidad del color, junto con la determinación de la intensidad colorante (longitud de onda de 620 nm), donde se obtuvieron valores relacionados con el azul. Por su lado, la evaluación visual presentó mayor frecuencia del azul violeta (RHS 94A). Si bien existen diversos factores que aún se deben estudiar para lograr la domesticación de especies nativas, los protocolos de propagación obtenidos permitirán establecer un banco de germoplasma para continuar las investigaciones con miras al mejoramiento genético de estas especies.

Palabras clave: flora nativa, germinación, técnicas de propagación, caracterización color, planta ornamental.

ABSTRACT

Various authors have identified a high ornamental and bioprospecting potential in native germplasm, in which much remains to be explored. In this sense, the use of native plants has several advantages over introduced plants due to their important adaptation to adverse edaphoclimatic conditions. The objective of this work is to present a compilation of studies carried out by the Floriculture Research Group (GIFLOR) of the University of Chile, regarding the propagation of Chilean native species: *Pasithea coerulea*, *Salpiglossis sinuata*, *Malesherbia linearifolia*, *Schizanthus hookeri* and *Junellia spathulata*. In addition, given the importance of this attribute in the ornamental area, a promising work carried out in the colour characterization (HPLC, spectrophotometer and color chart) in *P. coerulea* is presented. In the propagation studies, different scarification and stratification techniques, presence or absence of light, in the case of seeds, and different ex vitro and in vitro culture conditions were applied, using vegetative nodal explants. Regarding germination, the best results obtained were: the combination of scarification with H₂SO₄ and cold stratification for *P. coerulea* (93%); stratification with GA₃ in *S. sinuata* (85%); stratification with GA₃ in *M. linearifolia* (25.6%); dark treatment for *S. hookeri* (86.7%). In the in vitro propagation from nodal segments of *J. spathulata*, an average of 8.2 active shoots was obtained, combining BAP and Kinetin. The characterization of the colour in *P. coerulea* allowed to identify flavonoid compounds, benzoic aldehydes, and hydroxycinnamic acids, which would be responsible for the pigmentation and colour stability, together with the determination of the colouring intensity (wavelength of 620 nm), where values related to blue were obtained. On the other hand, the visual evaluation showed a higher frequency of blue violet (RHS 94A). Although there are several factors that still need to be studied to achieve the domestication of native species, the propagation protocols obtained will allow the establishment of a germplasm bank to continue this research, focusing on the breeding of these species.

Keywords: native flora, germination, propagation techniques, color characterization, ornamental plant.

INTRODUCCIÓN

La flora vascular chilena está compuesta de aproximadamente 5.000 especies nativas, de las cuales un 50% se catalogan como endémicas (Marticorena, 1990). Esta gran diversidad ha generado un creciente interés en utilizar especies nativas en vez de plantas exóticas para su cultivo ornamental. Esto debido a la gran adaptación de estas especies a condiciones edáficas y climáticas extremas, así como también frente a la escasez hídrica (Saldías, 2009). Económicamente, las plantas ornamentales constituyen un rubro creciente a nivel mundial, por lo que es imprescindible el conocimiento de su biología y propagación, generando programas de domesticación con el fin de incorporar al mercado nuevas variedades (Alonso *et al.*, 2009). Según ODEPA (2014), en Chile, el panorama económico del comercio exterior

de flores muestra una tendencia ascendente de las exportaciones e importaciones y un fuerte incremento en el consumo nacional de flores importadas. Sin embargo, aún existe una falta de conocimiento respecto a aspectos botánicos y ecológicos de las plantas nativas, esto sumado a la escasez de protocolos adecuados de propagación, que limitan el manejo de estas especies para una apropiada domesticación, que permita la conservación y utilización productiva de las mismas (Doll *et al.*, 2013). En cuanto a los métodos de propagación de especies nativas *ex situ*, además de los comúnmente conocidos, existen otros no tradicionales, como la propagación *in vitro*. Esta técnica cada vez más utilizada para propagar especies nativas o endémicas permite controlar las condiciones de cultivo, se puede aplicar a un amplio espectro de especies, requiere menor espacio y se obtiene una alta tasa de multiplicación (Pierik, 1997; Atarés, 2007). Dentro de las especies nativas chilenas que se describen con potencial ornamental se encuentran: *P. coerulea*, *S. sinuata*, *M. linearifolia*, *S. hookeri* y *J. spathulata* (Figura 1).



Figura 1. Flores e inflorescencias de especies nativas con potencial ornamental: *Pasithea coerulea* (A), *Junellia spathulata* (B), *Malesherbia linearifolia* (C), *Salpiglosis sinuata* (D) y *Schizanthus hookeri* (E).

Pasithea coerulea (Ruiz et Pavon) D. Don, conocida como azulillo es una especie monocotiledónea, geófito, perteneciente a un género monotípico, de la familia *Xanthorrhoeaceae*. Esta especie está descrita como nativa de Chile y Perú (Muñoz; 1966; Navas, 1973; Muñoz, 1985). En Chile, presenta una distribución geográfica que va desde la región de Antofagasta hasta la región de Los Ríos, siendo particularmente común en la zona central-mediterráneo, donde crece preferentemente en el sector costero y valles interiores, (Hoffmann, 1998; Schiappacasse *et al.*, 2002). Debido a sus características morfológicas, en especial por sus tépalos azules, color poco frecuente y muy apreciado en el ámbito ornamental, el azulillo presenta un gran potencial desde el punto de vista ornamental. Por esta razón, resulta importante identificar individuos que sean interesantes para su domesticación y futuro mejoramiento genético, así como mejorar los protocolos de germinación de la especie.

Por su parte, la especie *S. sinuata*, pertenece a la familia *Solanaceae* y corresponde a una hierba perenne de hasta 80 cm de altura, que presenta un tallo erecto, con flores tubulares, que florecen durante primavera. Dentro de sus características destacan su gran diversidad de colores, además del peculiar aroma a cacao que presentarían sus tallos, siendo una especie muy atractiva desde el punto de vista ornamental (Navas, 1973).

En cuanto a la especie *M. linearifolia* (Cav.) Pers., su nombre común es estrella azul de cordillera. Es una planta endémica de Chile, que habita en las alturas de la Cordillera de los Andes, comúnmente en cerros y quebradas (Hoffmann, 1998; Navas, 2001). Es importante considerar las condiciones geográficas y climáticas por las cuales se ven afectadas las semillas por lo cual es importante evaluar métodos pregerminativos para romper la dormancia. Esta especie presenta unas llamativas flores azules/violáceas y una vistosa arquitectura, que la hacen interesante desde un punto de vista ornamental.

Schizanthus hookeri es una especie endémica de Chile y Argentina, que pertenece a la familia *Solanaceae*, la cual habita entre los 1.300 y 3.000 m de altitud. En Chile se encuentra desde la región de Coquimbo hasta la región de La Araucanía. Es una planta anual de hasta 80 cm de altura, con flores de 2 a 3 cm de largo, color violáceas, rosadas o purpuras con una gran mancha amarilla en el lóbulo central, cualidades que hacen que la especie posea un alto valor ornamental. Debido a esto, este estudio busca desarrollar un método eficiente de propagación, ya que no existen descritos en esta especie.

La especie nativa *J. spathulata* pertenece a la familia *Verbenaceae*, la cual presenta una gran distribución en Chile, desde la ciudad de La Serena hasta Talca, habitando entre los 1.900 y 2.200 m de altitud. Es una especie arbustiva de hasta 1,5 m de altura (Riedemman *et al.*, 2014), que florece entre los meses de noviembre y febrero, presentando una inflorescencia terminal, aromática y de color lila (Peralta *et al.*, 2008), cualidades que le otorgan un gran atractivo desde el punto de vista ornamental.

Respecto a la caracterización de color, la investigación se ha enfocado en estudiar en forma prospectiva a las antocianinas presentes en flores de azulillo. Estos compuestos polifenólicos otorgan color (desde el rojo al azul) a la mayoría de las flores, frutos, hojas y tallos de las plantas, constituyendo el mayor grupo de pigmentos solubles en agua del reino vegetal (Strack y Wray, 1994). Los compuestos antociánicos, así como los copigmentos, juegan un rol importante en la naturaleza, ya que, al encontrarse asociados al color, atraen polinizadores y diseminadores de semillas cuando este color se expresa en flores y frutos respectivamente (Taiz *et al.*, 2006). Desde el punto de vista del mercado ornamental y por ende del fitomejoramiento, el color de las flores es de suma importancia, uno de los atributos más apreciados por los consumidores a la hora de comprar flores, por lo que estudios prospectivos permitirían comprender de mejor forma esta característica en especies nativas con potencial ornamental (Aros *et al.*, 2015; Aros *et al.*, 2020).

El objetivo de este trabajo, es presentar los estudios realizados por el Grupo de Investigación en Floricultura de la Universidad de Chile, resultados que se han obtenido principalmente a través de memorias de pregrado y proyectos de investigación, los cuales se han centrado en la domesticación a través de la propagación tradicional e *in vitro*, y la caracterización de aspectos de interés ornamental como son el color.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Para los estudios de propagación se recolectaron semillas para todas las especies, y, además, en *J. spathulata*, se recolectaron segmentos nodales de 2,0 cm de largo con dos pares de yemas axilares. Todo el material fue recolectado entre los años 2012 y 2017, desde la pre-cordillera y cordillera de la zona central de Chile. Las principales localidades fueron Farellones, en la comuna de Lo Barnechea, Pirque, El Cajón del Maipo, dentro de la región Metropolitana, y en Machalí, región de O'Higgins (en el caso de *P. coerulea*). Los experimentos fueron realizados entre los años 2012 y 2017. Para la caracterización del color, se utilizaron flores frescas de *P. coerulea*.

Propagación

Pasithea coerulea. El estudio de propagación se llevó a cabo utilizando un diseño con modelo factorial 2 x 3, con dos factores: estratificación y escarificación. Los niveles fueron dos para el caso de la estratificación (con estratificación 4 °C y sin estratificación 25 °C) y tres para el factor escarificación (solución con ácido sulfúrico (H₂SO₄) al 98% v/v, por 1 min, lavado por flujo de agua por 72 h, y sin escarificación). El diseño fue realizado con 6 tratamientos, 3 repeticiones por tratamiento y 25 semillas por repetición. En los tratamientos de escarificación, las semillas fueron lavadas por flujo de agua durante 72 horas, o a través del sumergimiento

en una solución de H_2SO_4 (98% v/v) durante 1 minuto. Para la estratificación las semillas fueron colocadas en bolsas con arena de lampa y una solución con fungicida de Pomarsol forte 80% WP (Anasac), concentración de 2 g/L, luego fueron expuestas a una temperatura de 4 ± 1 °C, durante 4 semanas. Es importante mencionar que, para todos los tratamientos, las semillas fueron embebidas con agua destilada durante 24 h, por 24 °C, también las semillas fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio (3% v/v), durante 10 min. Posterior a los tratamientos, las semillas fueron dispuestas en placas Petri, con papel filtro en una cámara de germinación a 24 °C en total oscuridad. El riego se realizó con una solución con fungicida, Pomarsol forte (Anasac), concentración de 2 g/L. Se evaluó el porcentaje de germinación de cada placa y la velocidad de germinación durante 10 semanas para los tratamientos sin estratificación y durante 6 semanas para los tratamientos con estratificación, ya que estas últimas presentaron una rápida germinación. Para la evaluación de germinación se consideró como semilla germinada aquella que emitió radícula. Se consideró además para este ensayo la aparición de plúmula, con el fin de estimar el porcentaje de semillas que llegan al estado de plántula. La frecuencia de observación fue cada 3 días. La velocidad de germinación se midió como la relación del número de semillas germinadas por el total de días desde la siembra (Scott *et al.*, 1984). Para el análisis estadístico se realizó un Análisis de Varianza (ANDEVA), y en el caso de existir diferencia significativa entre las medias de los tratamientos, se realizó una prueba de comparaciones múltiples de Tukey, con una probabilidad de $p \leq 0,05$.

Salpiglossis sinuata. Para la germinación de las semillas se utilizaron distintas concentraciones de AG_3 (0, 50, 150, 250 mg L^{-1}), con 3 repeticiones por tratamiento y 20 semillas por repetición, se utilizó un diseño completamente aleatorizado, las semillas fueron tratadas luego de una desinfección, con etanol al 95%, durante 5 minutos, utilizando luego cloro comercial al 10%, por 20 minutos, para posteriormente realizar 3 enjuagues con agua destilada estéril, inmediatamente se aplican los tratamientos con AG_3 , dejándolos en esta solución en movimiento por 24 horas. Se realizó una siembra en placas Petri con medio MS (Murashige y Skoog, 1962), suplementado con 30 g sacarosa L^{-1} , 7 g agar L^{-1} , pH 5,8. Se dispusieron en una cámara a 24 °C, en condiciones de luz y oscuridad. Se evaluó la germinación, durante 35 días, considerando semilla germinada aquella que emitió radícula, y luego las plantas germinadas en forma aleatoria fueron trasplantadas a tubos de ensayo con el mismo medio suplementado con distintos tipos de citoquininas: kinetina (KIN), thidiazuron (TDZ), isopenteniladenina (Zip) y bencilaminopurina (BAP). Para cada hormona se utilizaron las siguientes concentraciones: 0,1 mg L^{-1} , 0,5 mg L^{-1} , 1 mg L^{-1} , respectivamente, con cuatro repeticiones por tratamiento, una planta por unidad experimental. Transcurridos 21 días, se midieron fuera del medio y bajo cámara de flujo, el peso, la longitud y el número de hojas de cada planta. Tanto para el ensayo con semillas como plantas, se realizó un diseño completamente aleatorizado, para el análisis estadístico se realizó un Análisis de Varianza (ANDEVA), con Test de Tukey, con un nivel de significancia de un 5%.

Malesherbia linearifolia. Las semillas se sometieron a tratamientos de escarificación y estratificación. Los niveles de escarificación fueron: testigo, H₂SO₄ al 98% v/v, por 1 minuto y lavado con flujo de agua por 72 h. Los niveles de estratificación correspondieron a: testigo, ácido giberélico (AG₃) 50 ppm por 48 h, AG₃ 100 ppm por 48 h, y tratamiento de frío (0 °C por 4 semanas), realizando seis repeticiones para cada uno, y 15 semillas por unidad experimental. Se utilizó un Diseño Completamente Aleatorizado con Estructura Factorial de Tratamientos. Se realizó una desinfección superficial de las semillas que consistió en el uso de etanol al 90% (v/v) por 10 minutos, para luego utilizar cloro comercial (5% hipoclorito de sodio) al 20% (v/v) más 1 gota de detergente industrial durante 20 minutos, con posterior enjuague. Las semillas fueron dispuestas en placas Petri en condiciones in vitro, con medio MS, suplementado con 30 g sacarosa L⁻¹, 7 g agar L⁻¹, pH 5,8, en oscuridad total, a 21 °C. Se evaluó el porcentaje y velocidad de germinación cada tres días, por 90 días en total, para lo cual se consideró una semilla germinada aquella que emitió radícula. Para la velocidad, se midió el tiempo que tardaron los tratamientos en llegar al 50% de germinación. Los datos fueron evaluados con un ANDEVA con un nivel de confianza del 95%, Al existir dependencia de los niveles de los factores se realizaron varias pruebas de rango fijo de Tukey.

Schizanthus hookeri. Se realizaron tratamientos para la germinación de semillas, por medio de la exposición a la luz con fotoperiodo 16/8, y tratamiento con oscuridad total. Cada tratamiento constó de 3 repeticiones, con 10 semillas por cada placa, es decir, en cada unidad experimental. Para iniciar la propagación in vitro, las semillas fueron desinfectadas superficialmente con etanol 90% (v/v) durante 15 min, cloro comercial (5% hipoclorito de sodio) al 20% (v/v) por 20 min y finalmente fueron enjuagadas con agua destilada estéril. Para la siembra se utilizaron placas Petri que contenían 25% de medio de cultivo MS, con 30 g de sacarosa L⁻¹, 7 g de agar L⁻¹ y un pH ajustado a 5,7. Luego las placas se mantuvieron en una cámara de crecimiento con una temperatura de 18 ± 1 °C, para el tratamiento en oscuridad las placas se cubrieron con papel aluminio. Se evaluó el porcentaje de germinación y como criterio de evaluación se consideró como semilla germinada, aquella con una radícula de al menos 4 mm de largo. Las evaluaciones se realizaron cada 3 días, durante 4 semanas. Para el análisis estadístico se realizó un Análisis de Varianza (ANDEVA), con Test de Tukey.

Junellia spathulata. Se realizaron 3 tratamientos pre-germinativos de estratificación para las semillas de la especie, con AG₃: 50 mg L⁻¹ por 48 h; AG₃: 100 mg L⁻¹ por 48 h; y tratamiento de frío (4 °C por 4 semanas en condiciones húmedas), junto con el tratamiento testigo con agua destilada por 48 h. Se realizaron 5 repeticiones en cada tratamiento y la unidad experimental correspondió a una placa de Petri con 25 semillas cada una. Previo a los tratamientos, se realizó una desinfección superficial de las semillas que consistió en el uso de etanol al 90% (v/v) por 10 minutos, para luego utilizar cloro comercial (5% hipoclorito de sodio) al 20% (v/v), más 1 gota de detergente industrial durante 20 minutos. Posteriormente, se realizaron 5 enjuagues con agua destilada estéril. Las semillas fueron sembradas en placas Petri en un medio de cultivo ¼ MS, para posteriormente evaluar su germinación cada tres días por ocho

semanas, como criterio de evaluación se consideró como semilla germinada, aquella con una radícula. Además, se cuantificó la velocidad de germinación, midiendo el tiempo que tardaron los tratamientos en llegar al 50% de germinación, es decir, a los 1,5 milímetros de radícula.

En cuanto a los ensayos de propagación de segmentos nodales, se consideraron 6 tratamientos, utilizando un diseño completamente aleatorizado, donde en el medio de cultivo base utilizado fue MS suplementado con 30 g L⁻¹ de sacarosa y 7,5 g L⁻¹ de agar, junto con distintas concentraciones de BAP (1,0 mg L⁻¹), KIN (0,1 mg L⁻¹) y BAP (2,0 mg L⁻¹) + KIN (0,1 mg L⁻¹), según correspondiera el tratamiento (Tabla 1). Inicialmente, se realizó una desinfección superficial de los segmentos nodales, que consistió en el uso de etanol al 90% (v/v) por 10 minutos, para luego utilizar cloro comercial (5% hipoclorito de sodio) al 20% (v/v), más 1 gota de detergente industrial durante 20 minutos, luego se realizaron 5 enjuagues con agua destilada estéril. Luego del establecimiento de los segmentos, se midió el promedio de largo total de brotes (cm) y emisión de brotes secundarios activos (n°), es decir aquellos que no se encontraron deshidratados al momento de la evaluación. Las evaluaciones se realizaron una vez por semana, durante ocho semanas. Los resultados de cada ensayo se analizaron por separado a través de un análisis de varianza (ANDEVA) con un nivel de confianza del 95%. Al existir dependencia de los niveles de los factores se realizaron varias pruebas de rango fijo de Tukey con un nivel de significancia de un 5% para evaluar la relación de cada nivel de un factor con respecto al otro factor.

Tabla 1. Tratamientos aplicados a segmentos nodales in vitro de *Junellia spathulata*.

Tratamientos propagación in vitro por segmentos nodales (mg L⁻¹)
0 BAP y 0 KIN
2 BAP y 0 KIN
2 BAP y 0,1 KIN
0 BAP y 0,1 KIN
1 BAP y 0 KIN
1 BAP y 0,1 KIN

Caracterización de color en *P. coerulea*. La descripción del perfil antociánico se realizó con tépalos de 5 flores de la especie, donde se analizó por medio del sistema HPLC, acoplado a un detector de fotodiodos alineados (DAD). Fueron extraídos los tépalos de las flores, y luego se realizaron extracciones con una mezcla de metanol (MeOH)-H₂O (1:1 % v/v). La muestra fue filtrada e inyectada en el cromatógrafo (Agilent, 1200). Para la determinación de la intensidad colorante del extracto se utilizó parte de la muestra anterior, la cual fue filtrada

y depositada en una cubeta de cuarzo y evaluados en el espectrofotómetro (Shimadzu, UV-1700) a tres longitudes de onda: 420, 520, 620 nm. Para la obtención del extracto no antociánico, se utilizaron 4,5 mL de la muestra del macerado obtenido que se concentraron en el rotavapor (Buchi, R-210) a 37 °C, para luego ser completado el volumen con agua destilada hasta los 10 mL. Posteriormente se realizaron 6 extracciones, las tres primeras con 10 mL éter etílico y las siguientes con 10 mL de acetato de etilo. A la mezcla se depositaron 5 g de sulfato de sodio, que luego de ser filtrada se llevaron nuevamente al rotavapor a 37 °C. La muestra seca se restituyó con 1 mL de una mezcla MeOH-H₂O (1:1% v/v). Luego fue filtrada (filtro de 0,22 µm) y finalmente se inyectan 100 µL al cromatógrafo.

Además, para la determinación del color en forma visual se utilizó una carta de colores RHS *Mini Colour Chart* (Royal Horticultural Society, UK), en flores de *P. coerulea* con los tépalos completamente extendidos de 60 flores. Se evaluó la frecuencia de repetición de los colores.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluaciones de propagación

Pasithea coerulea

Mediante la evaluación se obtuvo como resultado una mayor germinación (93,3%) en los tratamientos de escarificación que fueron sometidos a una posterior estratificación, los cuales se correlacionaron positivamente con la aparición de plúmula (89,3%) y la velocidad de germinación (0,40- 0,41 n° semillas/día) (Tabla 2). Esto indicaría que la interacción entre estos tratamientos pre-germinativos afectaría significativamente la germinación en las semillas.

Tabla 2. Porcentaje de germinación, porcentaje de aparición de plúmula y velocidad de germinación de semillas de *Pasithea coerulea*, luego de ser sometidas a diversos tratamientos de escarificación y estratificación.

Tratamiento de escarificación	Tratamiento de estratificación (°C)	Germinación (%)	Aparición de Plúmula (%)	Velocidad de Germinación (n° semillas/día)
Sin escarificar	25 ¹	12,0 a	9,3 a	0,07 a
H ₂ SO ₄	25	69,3 c	58,7 c	0,29 bc
Lavado	25	42,9 b	36,0 b	0,20 b
Sin escarificar	4 ²	69,3 c	64,0 c	0,33 cd
H ₂ SO ₄	4	93,3 d	89,3 d	0,40 d
Lavado	4	93,3 d	89,3 d	0,41 d

Con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

¹Semillas permanecieron a 25 °C durante 4 semanas.

²Semillas permanecieron a 4 °C, durante 4 semanas.

Revisando la literatura se encuentra que similar resultado obtuvo Sun *et al.* (2006) en la especie *Iris lactea*, especie herbácea, geófito con semillas de estructura similar y presencia de dormancia al igual que *P. coerulea*, donde se observó una mayor germinación al usar tratamientos combinados, obteniendo un porcentaje de germinación por sobre el 80%. En este sentido, en estudios anteriores en *P. coerulea*, se logró obtener un porcentaje de germinación considerable (84%) al usar lavado o escarificación, pero este resultado se obtuvo luego de 6 semanas desde la siembra (González, 1998). Sin embargo, el uso de solo uno de estos dos métodos no sería satisfactorio para lograr un alto porcentaje de germinación, ya que el embrión, por su morfología y respuesta fisiológica a las temperaturas, necesitaría de la estratificación para lograr superar la dormancia (Zhou *et al.*, 2009). Además, uno de los tratamientos con mejores resultados fue con lavado más estratificación, lo que sugiere que los tratamientos con lavado pudieron haber removido inhibidores de la germinación, tales como compuestos fenólicos que se sitúan en el exterior de las semillas y que impedirían el paso del oxígeno al embrión, ya que estos compuestos actuarían como un filtro (Palazón *et al.*, 2001).

Salpiglossis sinuata

Para la germinación de *S. sinuata*, el mejor tratamiento fue la aplicación de 150 mg L⁻¹ de GA₃, con presencia de luz (85% de germinación), encontrando diferencias significativas respecto al tratamiento sin aplicación de GA₃ y en oscuridad (10% de germinación). Para la evaluación del crecimiento aéreo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para el peso del explante (g) y longitud (cm). Pero sí para el número de hojas, obteniéndose el mayor rendimiento en los tratamientos con BAP (1 mg L⁻¹) y KIN (0,5 mg L⁻¹) (Tabla 3).

Tabla 3. Promedio del número de hojas desarrolladas por *Salpiglossis sinuata*, luego de ser tratado con distintos tipos y concentraciones de citoquininas.

Tratamientos Citoquininas		Media N° hojas
Tipo de Citoquinina	Concentración (mg/mL)	
BAP	1	20,25 a
	0,5	10,50 ab
	0,1	8,75 ab
KIN	1	5,25 b
	0,5	20,00 a
	0,1	12,25 ab
2ip	1	9,25 ab
	0,5	7,00 ab
	0,1	12,50 ab

Tratamientos Citoquininas		
Tipo de Citoquinina	Concentración (mg/mL)	Media N° hojas
TDZ	1	4,75 b
	0,5	4,75 b
	0,1	4,75 b
Control	0	4,75 b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Malesherbia linearifolia

En general, en todas las evaluaciones realizadas se presentó una muy baja o nula germinación para las semillas de esta especie. El mayor porcentaje de germinación se obtuvo por medio del tratamiento sin escarificación combinado con estratificación en 100 ppm de AG_3 , por 48 horas (25,56%). Por otra parte, los tratamientos de lavado + frío; sin escarificación + frío; H_2SO_4 + frío y H_2SO_4 + remojo en 100 ppm de AG_3 , no presentaron germinación (Tabla 4). Esto pudo deberse a la alta contaminación que presentaron estos tratamientos o a la acción del H_2SO_4 , el cual posiblemente haya destruido la testa, inactivando el embrión. De esta forma, un estudio realizado por Delanoy *et al.* (2006), en especies de la familia *Passifloraceæ*, que se vinculan genéticamente con *M. linearifolia*, hace referencia a que, si bien las especies evaluadas pertenecen al mismo género, su comportamiento germinativo es diferente. En este sentido, en comparación al trabajo realizado, se obtuvieron similares resultado en cuanto a los tratamientos testigo, en los cuales se obtuvieron bajos porcentajes de germinación de las especies ya que el tratamiento control consistió en un remojo por 48 horas en agua destilada y a pesar de que en el trabajo de Ellis *et al.* (1985) se menciona la utilización del embebimiento en agua destilada como tratamiento efectivo para la germinación de *Passiflora* spp se comprobó no efectivo para el caso de *Malesherbia*. En cuanto a la velocidad de germinación, el tratamiento que fue sometido a 100 ppm AG_3 por 48 h, fue el que presentó mayor velocidad de germinación a diferencia del resto de los tratamientos, logra presentar semillas germinadas a un tiempo de evaluación menor que los otros tratamientos, empezando a manifestar germinación de semillas al día 5 y llegando a un pico a los 40 días.

Tabla 4. Porcentaje de germinación en semillas de *Malesherbia linearifolia*, luego de ser sometidas a diversos tratamientos de escarificación y estratificación.

Tratamiento de escarificación	Tratamiento de Estratificación	Germinación (%)
Lavado	Frío ¹	0 a
	AG ₃ 100	8,89 ab
	AG ₃ 50	13,33 abc
	Sin	8,89 ab
Sin escarificar	Frío	0 a
	AG ₃ 100	25,56 c
	AG ₃ 50	14,44 bc
	Sin	3,34 ab
H ₂ SO ₄	Frío	0 a
	AG ₃ 100	0 a
	AG ₃ 50	2,22 ab
	Sin	2,22 ab

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

¹Semillas permanecieron a 0 °C, durante 4 semanas.

Schizanthus hookeri

Se observó una mayor germinación en el tratamiento sometido a oscuridad (86,67%) en contraste con el tratamiento expuesto a luz (16,67%) (Tabla 5), con diferencias significativas. Este resultado en la germinación se puede atribuir a las condiciones naturales del lugar donde se desarrolla la especie, ya que durante invierno existe sobre el suelo una capa de nieve que no permite el paso de la luz, lo cual puede estar induciendo a las semillas latentes germinar y desarrollarse a partir de primavera, cuando las condiciones ambientales son más favorables para el desarrollo de las plántulas.

Tabla 5. Evaluación del porcentaje de germinación de *Schizanthus hookeri*, bajo condiciones de luz y oscuridad.

Temperatura exposición (°C)	Tratamientos Condición luz/oscuridad	Germinación (%)
18 ± 1 °C	Luz	16,67 a
18 ± 1 °C	Oscuridad	86,67 b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$), para cada tratamiento.

Junellia spathulata

Según los resultados de la germinación de las semillas se evidencia un muy bajo o nulo porcentaje de germinación de todos los tratamientos. Con los resultados obtenidos se realizó un test de viabilidad sobre el total de las semillas no germinadas de los tratamientos. A partir de este total se procedió a hacer el test bioquímico del tetrazolio, obteniendo como resultado que solo un 3,14% de las semillas se encontraron viables. En cuanto a la evaluación de los segmentos nodales in vitro, la emisión de brotes secundario muestra que hubo una interacción entre las fitohormonas BAP y KIN, por lo tanto, hay dependencia entre estos los factores. Es así, como los tratamientos con esta combinación, a las 4 semanas de evaluación se obtuvo una media de 4,6 brotes activos, esta tendencia se sostuvo hasta las 8 semanas, donde se obtuvo un promedio de 8,2 brotes activos (Figura 2).

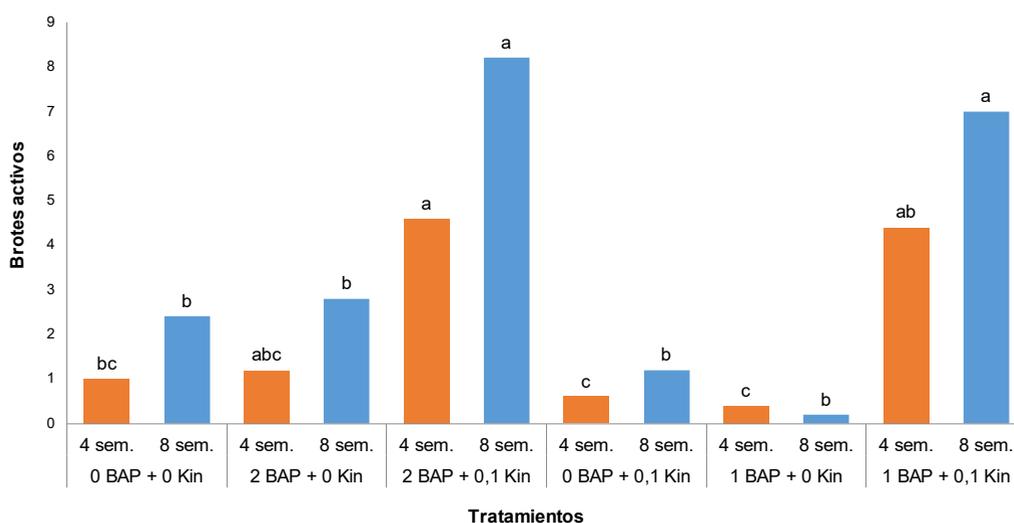


Figura 2. Promedio de brotes activos cultivados in vitro a las 4 y 8 semanas de *Junellia spathulata*. Medias con una letra común verticalmente no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

La efectividad de BAP sobre KIN radicaría en la capacidad de proliferación de brotes, dado a sus efectos en el rompimiento de la dominancia apical e inducción de la proliferación de yemas axilares en explantes cultivados in vitro: Además, el BAP es una citoquinina que los tejidos vegetales metabolizan de manera más eficiente que otros reguladores hormonales sintéticos (Delgado y Sánchez, 2014).

En cuanto al largo de brotes a las 4 semanas no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. A las 8 semanas se obtuvo interacción entre los factores BAP y KIN, ya que se observó una mayor respuesta en los tratamientos donde se utilizó la combinación de las dos citoquininas, obteniéndose una mejor respuesta en el tratamiento donde se utilizó la mayor concentración de BAP en combinación con KIN (2 mg L^{-1} BAP + $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ KIN), con una longitud de brotes promedio de 2,02 cm.

Caracterización de color en *P. coerulea*

Composición Antociánica. En el cromatograma tipo realizado mediante HPLC-DAD (520 nm) se obtuvo el perfil de antocianos de extractos de *P. coerulea*. En el cromatograma tipo por HPLC-DAD (280 nm) obtenido mediante análisis de HPLC (Figura 3) fue posible identificar aldehídos benzoicos como la p-vainillina (*peak* 1), ácidos hidroxicinámicos como los ácidos p-cumárico y ferúlico (*peaks* 2 y 3 respectivamente), compuestos flavonoides derivados de la quercetina, miricetina y kaempferol (*peaks* 4-11) y Di-OH-flavonol (picos 12 y 13).

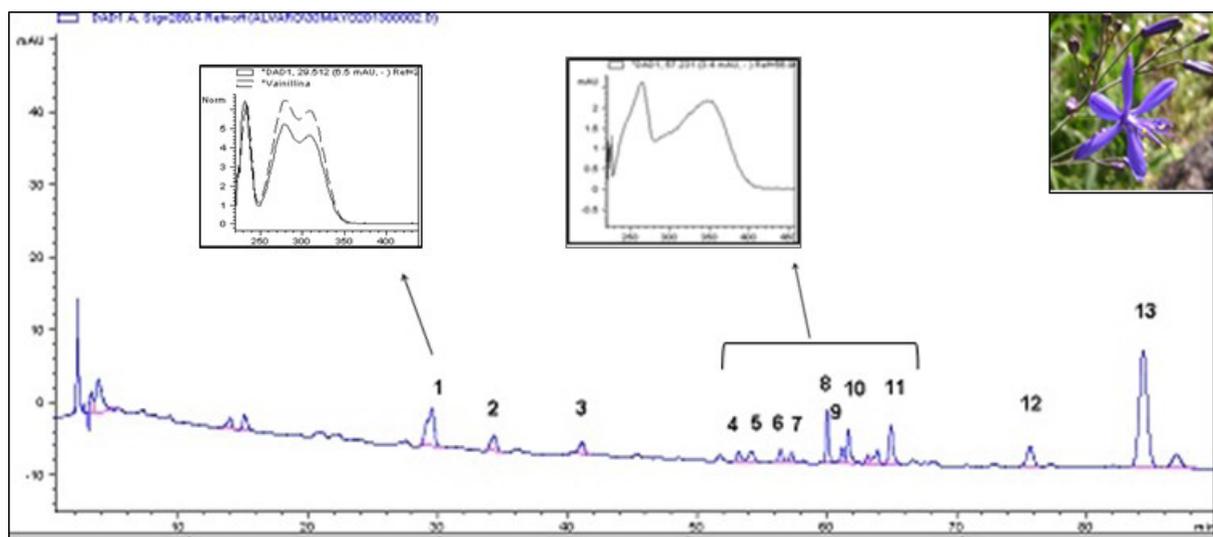


Figura 3. Cromatograma tipo obtenido por medio de HPLC-DAD de tépalos de *Pasithea coerulea*. Los compuestos identificados son: p-vainillina (1), ácido p-cumárico (2), ácido ferúlico (3), flavonoides derivados de quercetina, miricetina y kaempferol (4-11) y Di-OH-flavonol (12 y 13).

Los resultados de absorbancia obtenidos por medio del espectrofotómetro para las longitudes de onda 420, 520, 620 nm fueron 0,1370, 0,3646, 0,6177, respectivamente. Se puede apreciar que existe mayor valor de absorbancia para longitud de onda de 620 nm, que se relaciona con el color azul del espectro reflejado, seguido de 520 nm, relacionado con el color rojo y por último compuestos de bajo peso molecular que presentaron la absorbancia con la longitud de onda de 420 nm relacionada con la radiación reflejada que expresa el color amarillo (Taiz *et al.*, 2006).

Por último, para la determinación de color mediante la carta de colores se obtuvo una mayor frecuencia (33 flores) para el color azul violeta (RHS 94A).

CONCLUSIONES

La domesticación y caracterización de especies nativas con potencial ornamental es el primer paso para comenzar con programas de mejoramiento genético de estas especies. Por medio de los estudios realizados se estableció un protocolo eficaz y rápido de propagación por medio de semillas de *P. coerulea*, utilizando un método combinado de estratificación (4°C) y escarificación (H₂SO₄ o lavado). En *S. sinuata*, la condición de luz es más favorable para la germinación, así como altas concentraciones de AG₃, lo que puede tener clara relación con las bajas temperaturas a las que se ve expuesta en su hábitat durante el invierno. En cuanto a *M. linearifolia*, la evaluación realizada no es suficiente para llegar a una conclusión de los resultados obtenidos, es posible que se requiera utilizar otros métodos, como por ejemplo dosis más elevadas de AG₃, o con el fin de domesticar la especie utilizar individuos clonales. En el caso de *S. hookeri*, los resultados obtenidos en este estudio son una primera aproximación a un método de propagación masiva para la especie. En *J. spathulata*, si bien no se lograron resultados favorables para la propagación de semillas, y se deben realizar mayores estudios al respecto, sí se obtuvo un resultado favorable para establecer un sistema de propagación in vitro a partir de segmentos nodales, mediante la acción combinada de BAP y KIN. Por último, según el análisis realizado se pudo determinar por un lado la composición antocianica de *P. coerulea*, además de otros compuestos de bajo peso molecular asociados, los cuales podrían ser copigmentos. Dado el resultado de la absorbancia existiría relación entre ellos y antocianos que actúan directamente en el color de las flores, específicamente el espectro que refleja el color de azul a violeta de *P. coerulea*. Si bien existen diversos factores que aún se deben estudiar para lograr la domesticación de especies nativas, los protocolos de propagación obtenidos permitirán establecer un banco de germoplasma para continuar las investigaciones con miras al mejoramiento genético de estas especies.

AGRADECIMIENTOS

CONICYT N.º 77777, FONDECYT de Iniciación N.º 11130325, ANID. Gobierno de Chile. Programa U-inicia, Vicerrectoría de Asuntos Académicos, Universidad de Chile.

REFERENCIAS

ALONSO, S.; NUCIARI, M.; GUMA, I.; VAN OLPHEN, A. 2009. Flora of an area of the Sierra La Barrosa (Balcarce) and phenology of species with ornamental potential. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo 41(2), 23-44.

- AROS, D.; SPADAFORA, N.; VENTURI, M.; NÚÑEZ- LILLO, G.; MENESES, C.; METHVEN, L. 2015. Floral scent evaluation of segregating lines of *Alstroemeria caryophyllaea*. *Scientia Horticulturae* 185, 183-192.
- AROS, D.; GARRIDO, N.; RIVAS, C.; MEDEL, M.; MÜLLER, C.; ROGERS, H.; ÚBEDA, C. 2020. Floral scent evaluation of three cut flowers through sensorial and gas chromatography analysis. *Agronomy* 10(1), 131.
- ATARÉS A. 2007. El cultivo in vitro de plantas: ventajas y aplicaciones. Jornadas de divulgación científica. Valencia, España: Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas, Universidad Politécnica de Valencia. <https://www.scribd.com/doc/16584088/Tecnicas-de-cultivo-in-vitro-de-plantas>, verificado 02/12/2020.
- DELANOY, M.; VAN DAMME, P.; SCHELDEMAN, X.; BELTRAN, J. 2006. Germination of *Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey, *Passiflora tricuspis* Mast. and *Passiflora nov* sp. seeds. *Scientia Horticulturæ* 110(2), 198-203.
- DELGADO, L.; SÁNCHEZ, R. 2014. Clonal multiplication in vivo and in vitro of the native forest species *Aniba perutilis* Hemsl. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. *Acta Agronómica* 65(2), 190-196.
- DOLL, U.; FREDES, V.; SOTO, V. 2013. Efecto de distintos tratamientos pregerminativos sobre la germinación de seis especies nativas de la región mediterránea de Chile. *Idesia, Arica* 31(3), 71-76.
- ELLIS, R., HONG, T.; ROBRECHTS, E. 1985. Handbook for seed technology for genebanks. Vol. 2: Compendium of specific germination. Information and test recommendation. Rome, Italy: International Board for Plant Genetic Resources. 715 p
- GONZÁLEZ, M. 1998. Estudios de domesticación de Azulillo *Pasithea coerulea* (R. et P.) D. Don. Tesis de grado Ingeniero Agrónomo. Santiago, Chile: Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca. 48 p.
- HOFFMANN, A. 1998. Flora Silvestre de Chile, zona central. 3ra ed. Santiago, Chile. Fundación Claudio Gay. 255p.
- MARTICORENA, C. 1990. Contribución a la estadística de la flora vascular de Chile. *Gayana Botánica* 47(3-4), 85-113.
- MUÑOZ, C. 1966. Sinopsis de la Flora Chilena. Claves para la identificación de familias y géneros. 2.º ed. Santiago, Chile: Editorial Universidad de Chile. 176 p.
- MUÑOZ, M. 1985. Flores del Norte Chico. 2.º ed. Santiago, Chile: Editorial Dirección de Bibliotecas Archivos y Museos. 24 p.

- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum* 15(3), 473-497.
- NAVAS, L. 1973. Flora de la Cuenca de Santiago de Chile. 1.º ed. Santiago, Chile. Ediciones de la Universidad de Chile y Editorial Andrés Bello. 301 p.
- ODEPA (Oficina de Estudios y Políticas Agrarias de Chile). 2014. Boletín de flores: precios y comercio exterior mayo 2014. https://www.odepa.gob.cl/wp-content/uploads/2014/05/boletinflores_mayo2014.pdf, verificado 02/12/2020.
- PALAZÓN, J.; CUSIDÓ, R.; MORALES, C. 2001. Metabolismo y significación biológica de los polifenoles del vino. *ACE: Revista de Enología* 9,1.
- PERALTA, P.; MÚLGURA DE ROMERO, M.; DENHAM, S.; BOTTA S. 2008. Revisión del Género *Junellia* (*Verbenaceae*). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 95, 338-390.
- PIERIK, R. 1997. In Vitro Culture of Higher Plants. 4.º ed. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 348 p.
- RIEDEMANN, P.; ALDUNATE, G.; TEILLIER, S. 2014. Arbustos nativos de la zona centro-sur de Chile. Guía de Campo. 1.º ed. Concepción, Chile. Ed. Corporación Chilena de la Madera, 308 p.
- SALDÍAS, G. 2009. Las especies ornamentales como factor de identidad regional en Chile. *Chloris Chilensis*. Año 12; N.º 1. <http://www.chlorischile.cl/ARBOLIDENTIDAD/SALDIAS/SALDIAS%20Identidad%20Regional%20Corregido.htm>, verificado 09/12/2020.
- SCHIAPPACASSE, F.; PEÑAILILLO, P.; YAÑEZ, P. 2002. Propagación de bulbosas chilenas ornamentales. 1.º ed. Talca, Chile: Editorial Universidad de Talca. 65 p.
- SCOTT, S.; JONES, R.; WILLIAMS W. 1984. Review of Data Analysis Methods for Seed Germination. *Crop Science* 24(6), 1192-1199.
- STRACK, D., WRAY, V. 1994. The Anthocyanins. En: HARBORNE, J. B. *The Flavonoids: Advances in Research*. Londres, Inglaterra. Editorial Chapman and Hall, pp.135-158.
- SUN, Y.; ZHANG, Y.; WANG, K. 2006. NaOH Scarification and Stratification Improve Germination of *Iris lacteal* var. *chinensis* Seed. *Hort Science* 41(3), 773-774.
- TAIZ, L., ZEIGER, E. 2006. Fisiología vegetal. Tomo 1. 3º ed. Castellón, España. Editorial Universitat Jaume I, 576 p.
- ZHOU, Z.; BAO, W.; WU, N. 2009. Dormancy and germination in *Rosa multibracteata* Hemsl. & E. H. Wilson. *Scientia Horticulturae* 119(4), 434-441.