

**UNIVERSIDAD DE TARAPACÁ**  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS



**PROPAGACIÓN DE *MALESHERBIA*  
*AURISTIPULATA* RICARDI**

MEMORIA PARA OPTAR AL TITULO PROFESIONAL DE  
INGENIERA AGRÓNOMA

ALUMNA:

CAROLINA AGUIRRE DÍAZ

PROFESORES GUÍA:

ELIANA BELMONTE SCHWARZBAUM

GERMÁN SEPULVEDA CHAVERA

**2020**

# UNIVERSIDAD DE TARAPACÁ

## FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS



## PROPAGACIÓN DE *MALESHERBIA AURISTIPULATA*

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERA AGRÓNOMA

ALUMNA:

CAROLINA AGUIRRE DÍAZ

PROFESORES GUÍA:

ELIANA BELMONTE SCHWARZBAUM

GERMÁN SEPULVEDA CHAVERA



**Nombre Científico:**

*Molesherbia auristipulata* Ricardi

**Nombre común:**

Ají de zorra, piojillo

**Familia:**

Passifloraceae

**Fruto:**

Cápsula

**Hábitat y distribución en Chile:**

Muy escasa. Crece en pocos sectores, generalmente en quebradas secas del límite del desierto, siendo componente de la vegetación de las quebradas pedregosas. En Chile se encuentra en la Cuesta El Águila y Quebrada de Cardones entre los 1700 y 2500 m. Ha sido descrita para la región de Tarapacá.

Endémica.



# INDÍCE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	01
1.1 Hipótesis	02
1.2 Objetivos	02
1.2.1. Objetivo general	02
1.2.2. Objetivos específicos	02
<b>2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	03
2.1 Antecedentes	03
2.2 <i>Malesherbia</i>	03
2.3 Variación morfológica	05
2.4 Morfología floral	05
2.5 Desarrollo floral	08
2.6 Distribución, especiación y taxonomía	09
2.7 Antecedentes generales de <i>Malesherbia auristipulata</i>	14
2.7.1 Características botánicas de la Familia Malesherbiaceae	14
2.7.2 Distribución geográfica	15
2.7.3 Condiciones edafoclimáticas	16
2.8 Estructura de las semillas	16
2.8.1 Latencia de la semilla	17
2.8.2 Germinación de la semilla	17
2.8.3 Escarificación	18
2.8.4 Escarificación química	18
2.8.5 Escarificación mecánica	18
2.8.6 Escarificación térmica	18
2.8.7 Estratificación	19
<b>3. MATERIALES Y MÉTODO</b>	19
3.1 Materiales	19
3.2 Metodología	19
3.2.1 Colecta de material vegetal	19
3.2.2 Prueba de viabilidad	21
3.2.3 Pruebas de germinación	21
3.2.4 Tratamiento germinativo de semillas en 48 horas frío a 4°C	23
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	23
4.1 Germinación de semillas	23
4.1.1 Tratamiento germinativo de semillas en 48 °C y frío	23
4.1.2 Efecto de la hidratación sobre la germinación de semillas de <i>M. auristipulata</i>	24
4.1.3 Escarificación mecánica mediante el despunte de semillas de <i>M. auristipulata</i>	26
4.1.4 Prueba de viabilidad de semillas mediante test de Tetrazolio (TZ).	28
<b>5. CONCLUSIONES</b>	30
<b>6. BIBLIOGRAFÍA</b>	31

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Aspecto general de la flor y el hábito vegetativo en el género <i>Malesherbia</i> Ruiz y Pav., en sus cinco secciones	04
<b>Figura 2</b> Morfología floral en <i>Malesherbia</i>	07
<b>Figura 3</b> Desarrollo floral en <i>Malesherbia</i>	08
<b>Figura 4</b> Especies de <i>Malesherbia</i> de distribución restringida	09
<b>Figura 5</b> Variedades en especies de <i>Malesherbia</i> de amplia distribución	10
<b>Figura 6</b> Especies y variabilidad interespecífica	13
<b>Figura 7</b> Variabilidad intraespecífica temporal en <i>Malesherbia</i>	14
<b>Figura 8</b> Flor de <i>Malesherbia auristipulata</i>	15
<b>Figura 9</b> Flores maduras de <i>M. auristipulata</i>	20
<b>Figura 10</b> Germinación de semillas de <i>M. auristipulata</i> sometidas por 48 horas frío a 4°C	23
<b>Figura 11</b> Semilla de <i>M. auristipulata</i> germinadas	24
<b>Figura 12</b> Tratamientos de imbibición 6 y 24 horas de nitrato de potasio (KNO <sub>3</sub> ) en 72 horas frío a 4°C	25
<b>Figura 13</b> Germinación (%) de semillas de <i>M. auristipulata</i> escarificadas mecánicamente	27
<b>Figura 14</b> Tratamiento de escarificación mecánica despunte apical de semillas T0: sin frío a 4°C	28
<b>Figura 15</b> Tinción de tetrazolio en el embrión de semillas de <i>M. auristipulata</i>	29

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Registro de parámetros ambientales de cuesta El Águila (2018 y 2019)	16
<b>Tabla 2:</b> Semillas germinadas de <i>M. auristipulata</i> en KNO <sub>3</sub> por tiempo diferencial y sometidas a tres periodos de frio.	25
<b>Tabla 3:</b> Valores totales de germinación de semillas de escarificación mecánica manual. Despunte apical desde el 2 al 5 de diciembre del 2019.	26
<b>Tabla 4:</b> Prueba de viabilidad con Tetrazolio (TZ) al 1% en semillas de <i>M. auristipulata</i> en dos fechas de evaluación.	29

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco:

Siempre agradecida de la dedicación, tiempo y consejos entregados por ti mi hermosa e iluminada Ester Aguirre, recordándote por siempre y que este fin de una etapa y comienzo de la aventura que se aproxima sea para ti. Porque uno es el arquitecto de su propio camino como me decías a diario, por motivarme a nunca dejar de aprender.

Te quiero y extraño.

A mi familia por el apoyo constante y la preocupación, por a pesar de las adversidades siempre saber que cuento con ustedes

A mis amistades, mis oyentes, compañeros de la montaña rusa que es la vida en sus altos y bajos, en sus días coloridos y sus días grises.

A ti, que a diario me levantas con tus palabras, que a pesar del tiempo y sus flaquezas siempre estás conmigo, navegando y remando por las metas que nos proponemos, por tu amor en los tiempos adversos, por tenerte en las alegrías, en las rabias y en las penas, y por qué nunca se mueran las metas, que los sueños sobreploten siempre.

A mis queridos y estimados profesores Eliana Belmonte y German Sepúlveda, por la confianza que me entregaron a diario y la sabiduría que compartían conmigo, por alimentar mis sueños por la ciencia y se comprensivos cuando no podía y no entendía algunos procesos. A profesora Eliana por aumentar el amor por la botánica en las ayudantías que me permitía impartir en sus laboratorios, las salidas a explorar especies, las dudas que me respondía, el censo de un año que nos hizo amar y admirar más *Malesherbia auristipulata*.

A Mabel por la paciencia entregada en enseñarme protocolos de laboratorio las largas tardes conversando de diversos temas interesantes y consejos sabios de la vida.

A la Universidad por entregar las herramientas y los conocimientos en personas que nunca negaron heredar un poco de su experiencia tanto estudiantil, laboral y de la vida misma. Siendo el nido y la casa matriz para facilitar el despegue hacia las vivencias laborales y ser el camino a los sueños y metas personales.

## RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la escarificación mecánica y química sobre la germinación de *Malesherbia auristipulata* (Passifloraceae), *in vitro*, emulando las condiciones de su hábitat natural. Las semillas se desinfectaron previamente y se establecieron tratamientos con exposición a 4°C en diferente tiempo de exposición y sometiendo a diferentes condiciones de escarificación. Las semillas se recolectaron en una población localizada en la cuesta El Águila, sector quebrada de Cardones, región de Arica y Parinacota (1.800 msnm), se separaron agrupando en lotes de 90 semillas. Las evaluaciones consideraron parámetros de germinación (velocidad de germinación), determinando el mejor tratamiento. La escarificación mecánica fue el tratamiento de mejor respuesta. Esta especie fue reclasificada en peligro crítico (CR) por el comité de Clasificación de Especies Silvestres del Ministerio del Medio Ambiente, según criterios UICN\*, versión 3.1: una población presente en un sector muy acotado, con un área de ocupación menor a 10 Km<sup>2</sup>, sujeta a acciones antrópicas por la construcción de la carretera, instalación de bodegas para maquinarias, efectos climáticos como las lluvias estivales que arrastran ramas o incluso plantas completas, depredadores como orugas que se alimentan de ápices y botones florales de ejemplares en diferentes estados fenológicos.

Palabras Clave: Escarificación, Germinación, *Malesherbia auristipulata* Ricardi, Tratamientos Pre- germinativos.

\*UICN corresponde a Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza.



## SUMMARY

The objective of this study was to determine the effect of mechanical and chemical scarification on the germination of *Malesherbia auristipulata* (Passifloraceae), *in vitro*, emulating the conditions of its natural habitat. The seeds were previously disinfected and treatments were established with exposure to 4°C at different exposure times and subjecting them to different scarification conditions. The seeds were collected in a town located on the Cuesta El Águila, sector quebrada de Cardones, Arica and Parinacota region (1,800 masl). The seeds were separated in the laboratory, grouping in batches of 90 seeds. The evaluations considered germination parameters (germination speed), determining the best treatment. Mechanical scarification was the best response treatment. This species was reclassified as Critically Endangered (CR) by the Wild Species Classification Committee of the Ministry of the Environment, according to IUCN\* criteria, version 3.1: a population present in a very limited sector, with an area of occupation of less than 10 km<sup>2</sup>, subject to anthropic actions due to the construction of the road, the installation of warehouses for machinery, climatic effects such as summer rains that carry branches or even whole plants, predators such as caterpillars that feed on the apices and flower buds of specimens in different phenological stages.

Key Words: Scarification, Germination, *Malesherbia auristipulata* Ricardi, Pre-germinative Treatments.

\* IUCN corresponds to the International Union for the Conservation of Nature.

## 1. INTRODUCCIÓN

La propagación de plantas consiste en la multiplicación, por medios sexuales como asexuales, de las especies vegetales. Un estudio de la propagación de plantas presenta tres aspectos diferentes: conocer las manipulaciones mecánicas y procedimientos técnicos, cuyo dominio requiere de experiencia, siendo ejemplo de ello el proceso de injerto o propagación por estacas, aspecto que puede considerarse como el arte de la propagación. El segundo aspecto, requiere del conocimiento de las estructuras y el proceso fisiológico de desarrollo vegetal, lo cual constituye la ciencia de la propagación. Por último, el tercer aspecto se fundamenta en el conocimiento de los requerimientos propagativos de las distintas especies vegetales, así como los distintos métodos con los cuales es posible propagarlas. En gran parte, el método seleccionado debe estar en relación con la respuesta de la especie que se propaga y la situación en que se efectúa (Hartmann y Kesler, 1990).

En la naturaleza, la propagación sexual - por semillas - es uno de los principales sistemas de reproducción de las plantas y uno de los más eficientes. A las plantas jóvenes obtenidas por semillas se les llama plántulas, término que en horticultura puede aplicarse durante toda la vida de la planta, aunque en botánica se aplica específicamente al periodo inmediato que sigue a la germinación de las semillas. La siembra de la semilla es el inicio físico de la obtención de plántulas, sin embargo, la semilla misma es el producto final de un proceso de crecimiento y desarrollo efectuado en la planta progenitora. Ese proceso de desarrollo se inicia con la fusión de los gametos masculino y femenino para formar, dentro del ovario de la flor, una sola célula (el cigoto) (Solomon *et al.*, 2001).

El éxito de los métodos de propagación descritos, permite su aplicación a plantas nativas, particularmente si están en algún grado de vulnerabilidad en su ambiente natural.

*Maesherbia auristipulata*, ají de zorra o piojillo, es una especie endémica, de distribución restringida y muy escasa en su medio natural (Gengler-Nowak, 2002, Riedemann *et al.*, 2006). Habita en las quebradas pedregosas de la precordillera de la región de Tarapacá (Ricardi, 1965, 1967), entre 1.800 a 2.500 msnm. La mayoría de los registros provienen de la cuesta El Águila en el sector de Quebrada de Cardones, donde comparte su hábitat con el cactus candelabro (*Browningia candelaris*) (Riedemann *et al.*, 2006). Crece en cursos someros formado por aluviones donde en algún momento hubo paso de agua (Belmonte, 2011).

## 1.1 Hipótesis

La estratificación y escarificación química y/o mecánica, reduce el estado de reposo (dormancia o latencia) de las semillas de *Malesherbia auristipulata*.

## 1.2 Objetivos

### 1.2.1. Objetivo general

- Contribuir a entender el proceso germinativo de semillas de *Malesherbia auristipulata*, sometidas a diferentes tratamientos de estratificación y escarificación.

### 1.2.2. Objetivos específicos

- Evaluar la viabilidad del embrión.
- Evaluar la germinación de semillas de *Malesherbia auristipulata* sometidas a diferentes temperaturas: 4, 7, 20 y 30°C.
- Evaluar la germinación de semillas de *Malesherbia auristipulata* sometidas a tratamientos de escarificación mecánica y química.
- Seleccionar el mejor tratamiento para inducir la germinación de semillas de *Malesherbia auristipulata*.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Antecedentes

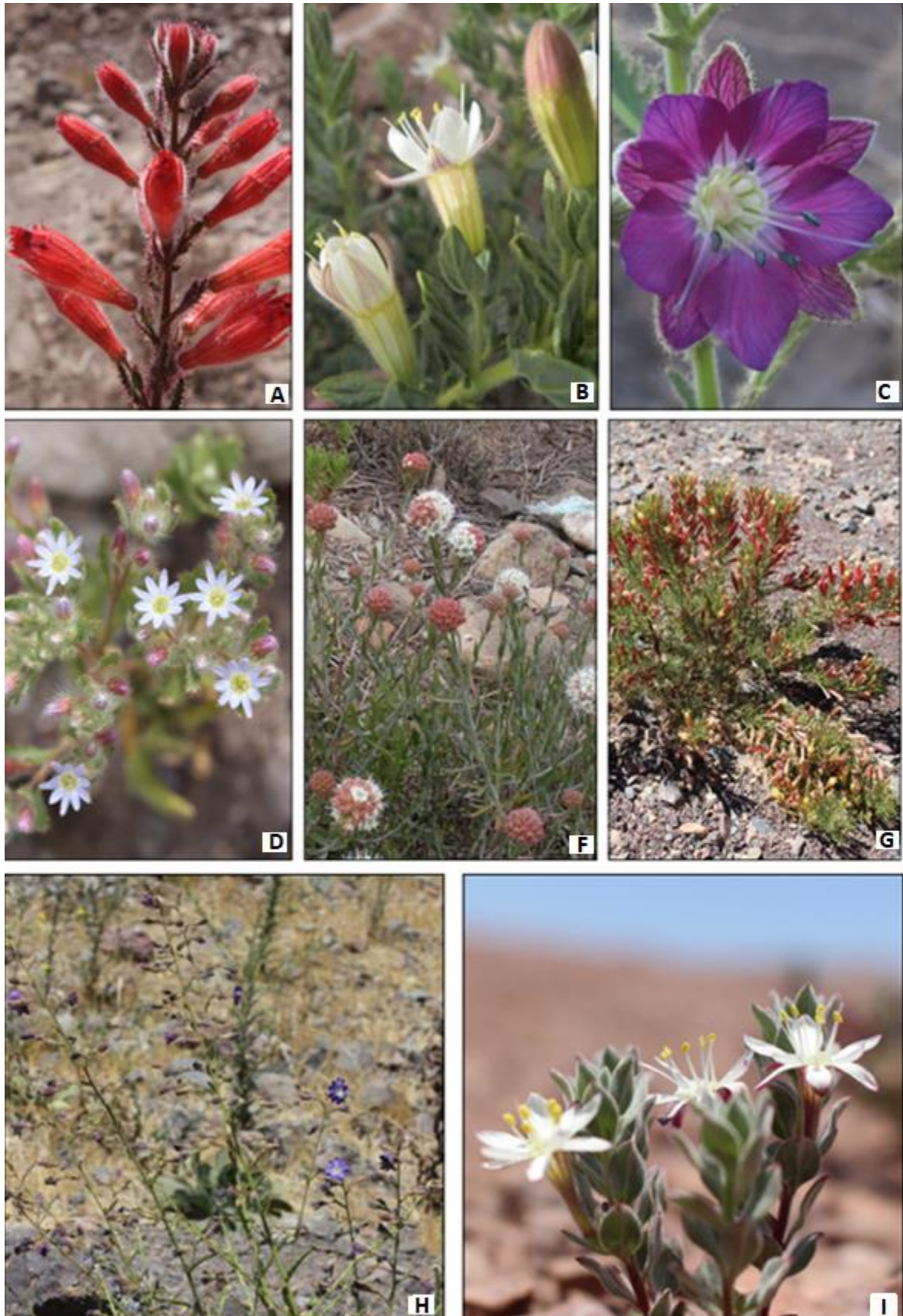
*Malesherbia auristipulata* es una especie arbustiva, ornamental, que puede crecer hasta dos metros de altura. Tiene tallo leñoso ramificado desde la base; todas las ramas terminan en una inflorescencia de variada longitud (de 5 a 40 cm), con hojas pequeñas oscuras, pilosas. Las flores pueden medir hasta 22 cm de largo por casi 1 centímetro de ancho.

En la actualidad *Malesherbia auristipulata* fue reclasificada por el Comité de Clasificación de Especies Silvestres del Ministerio del Medio Ambiente. En su Décimo sexto Proceso de Clasificación (2019) reclasificó la especie dándole la categoría En Peligro Crítico (CR), según los criterios UICN versión 3.1: en Chile se ha detectado una población que habita en un sector muy acotado, menor a 10 Km<sup>2</sup>, en la cuesta el Águila, Quebrada de Cardones (1.800 msnm), Región de Arica y Parinacota (GPS 19K 0408005/7957540).

### 2.2 *Malesherbia*

El género *Malesherbia* fue descrito originalmente por Hipólito López y Juan Pavón y Jiménez en su obra de 1794 *Florae peruvianaee et Chilensis Prodomus* como parte de los resultados de su viaje de exploración botánica a Sudamérica. Con este acto ellos decidieron honrar la memoria del mecenas francés amante de la botánica Guillaume-Chrétien de Lamoignon de *Malesherbes* quien fuese decapitado el mismo año como consecuencia de la Revolución en Francia. Dadas las particulares características de *Malesherbia*, por mucho tiempo este género se trató como una familia independiente (Malesherbiaceae). Sin embargo, actualmente y, de acuerdo a los esfuerzos de reconstrucción filogenética molecular, el género se encuentra considerado dentro de la familia Passifloraceae (Rodríguez y Marticorena, 2019).

La descripción del género se hizo en base a la especie *Malesherbia tubulosa* (Cav.) J. St.-Hil. que habita en el Perú, país donde en la actualidad se reconocen unos 15 taxa incluyendo dos híbridos (Beltrán *et al.*, 2018). No obstante, el género presenta su mayor diversidad en Chile, tanto por el número de especies (16), así como por que en este territorio están representadas las cinco secciones que albergan el rango de la diversidad morfológica apreciable en el género (Gengler, 2003, Figura1A-E). Es probable que esta amplia variabilidad morfológica sea la responsable de que en Chile las distintas especies de *Malesherbia* se conozcan comúnmente por nombres muy variados y disimiles, dificultando el reconocimiento de parentesco entre ellas, como por ejemplo *Estrella de la cordillera*, *Hierba miel*, *Ají de zorra*, *Piojillo*, entre otras (Op.cit).



**Figura 1.** Aspecto general de la flor y el hábito vegetativo en el género *Malesherbia* Ruiz y Pav., en sus cinco secciones. **A.** Sección *Malesherbia*, *M. auristipulata*. **B.** Sección Xeromontana, *M. deserticola*. **C.** Sección Cyanipetala, *M. paniculata*. **D.** Sección Parvistella, *M. humilis* var. *humilis*. **E.** Sección Albitomenta, *M. fasciculata* var. *fasciculata*. **F.** Hábito subarbustivo de *M. tenuifolia* en el lecho de una quebrada. **G.** Hábito subarbustivo de *M. linearifolia* al costado de un río entre rocas. **H.** Hábito herbáceo perenne de *M. láctea* en planicies de altura. **Fuente:** Kester Bull-Hereñu, 2018.

### 2.3 Variación morfológica

*Malesherbia* habita de modo natural en Chile en la zona andina y costera del norte del país, en un territorio de más de 2.000 km de extensión y de un rango altitudinal de hasta 4.000 msnm. A las representantes de *Malesherbia* les acomoda en general crecer en laderas asoleadas y sobre sustratos inestables. Suelen crecer en áreas y sitios puntuales y aun así no necesariamente en un alto número poblacional (Echeñique, 2018).

Las especies de *Malesherbia* presentan aspectos disimiles entre ellas respecto a la constitución de su flor e inflorescencia (Figura1). Se pueden registrar al menos tres “tipos” de flores de *Malesherbia*. En primer lugar, la de forma tubular (Figura 1A) que se corresponde con el de la especie tipo del género y que caracteriza a la selección homónima “*Malesherbia*” dentro del género *Malesherbia*, agrupando 15 especies de las 27 aceptadas dentro del género, entre ellas se incluyen a las taxa peruanas y cuatro de las chilenas con distribución en el extremo norte en el país, y entre los que dominan tonos rosados y rojizos en la flor (Figura 1A) (Op.cit).

El aspecto estrellado y acampanulado en el resto de las especies (Figura1B-D), con colores que varían desde tonos blanquecinos y amarillentos hasta celestes, azulados y lilas. Por último, como en el caso de la especie *Malesherbia fasciculata* en la que sus flores son diminutas en tamaño y se aglomeran en inflorescencias densas y globulares (Figura 1F), otorgándole a la planta un aspecto bastante diferente al resto de los otros representantes del género (Op.cit).

Las especies *Malesherbia* en su mayoría son subarbustos o hierbas perennes (Figura 1F-H) y suelen florecer profusamente y durante un largo periodo el año. Solo existe una especie de habito anual: *M. humilis* (Figura 1D), que posee el mayor rango de distribución en Chile desde la Región de Arica y Parinacota hasta la región del Maule, continuando incluso hacia la Patagonia Argentina (Gengler-Nowak,2003, Hernández *et al.*, 2014).

La diversidad floral y hábitos de crecimiento en el género, sugiere que la relación sistemática entre sí no corresponde al mismo género La diversidad floral y hábitos de crecimiento en el género, sugiere que la relación sistemática entre sí no corresponde al mismo género (Echeñique, 2018).

### 2.4 Morfología floral

La flor de *Malesherbia* responde a un patrón único de organización que, aunque bastante único dentro de las Angiospermas, si es común a todos los integrantes del género (Engler.,1894). La flor está compuesta por un tubo floral o hipanto en cuyo

borde superior se adosan cinco lóbulos calicinos (sépalos) y cinco pétalos en alternancia entre sí (Fig.2A). Hacia el interior y rodeando la garganta del tubo se encuentra una estructura circunferencial de variable extensión denominada corona (Fig.2B), la que normalmente se aprecia como una cinta dentada de altura variable. Los verticilos fértiles se encuentran unidos a la base del tubo floral a través de una especie de pedestal denominado Androginóforo (Fig.2C) que sostiene a cinco estambres rodeando un ovario unicelular que este coronado por tres estilos bastantes extendidos (Fig.2D). La suma de estas características comunes a todos los integrantes del género, en parte también lo son de otros integrantes de la familia como las *Passiflora* (Echeñique, 2018).

¿Qué es entonces lo que determina la variabilidad en la apariencia floral entre especies de *Malesherbia*? La respuesta está, en que las apariencias tubulares poseen un hipanto estirado, cáliz y corola de poco desarrollo y pobre apertura, así como una corona profusa (Fig.2E). Por el otro lado, aquellas de apariencia campanular y estrellada presentan un mayor crecimiento y apertura de los lóbulos del perianto. En suma, los segmentos más desarrollados de la flor son aquellos que llaman la atención del observador y le distrae de tomar en cuenta el resto. Así, en las flores de apariencia tubular casi no se nota el disminuido perianto (Fig.2D, E), mientras que en las flores de perianto profuso no se aprecia el tubo floral que de igual modo se encuentra allí, aunque de forma más bien cónica y escondido por los limbos abiertos (Fig.2A, B) (Op.cit).

A su vez, el particular casi de *M. fasciculata* responde a la retención en tamaño de sus yemas florales y a la no elongación de los internodios de su inflorescencias densas y globosas (Fig.1E), aunque en rigor la morfología floral sea la misma que en el resto de especies (Fig.2F) (Op.cit).



**Figura 2.** Morfología floral en *Malesherbia*. **A.** Flor de *M. linearifolia* vista de lado mostrando el tubo floral o hipanto en la base y los lóbulos calicinos y pétalos que se desprenden de su extremo superior. **B.** Flor de *M. linearifolia* mostrando lóbulos de perianto abierto y en su interior una corona manifiesta rodeando las estructuras reproductivas. **C.** Flor de *M. lirana* var. *Bracteata* cuyo tubo floral ha sido abierto en su base para poner en manifiesto el Androginóforo que sostiene el ovario y androceo. Nótese los nectarios de color amarillo húmedos por su secreción. **D.** Flor de *M. tenuifolia* cuyo hipanto ha sido abierto longitudinalmente y que pone de manifiesto el Androginóforo que sostiene al ovario y androceo. Nótese los cinco estambres que terminan en las anteras amarillas y los tres estilos que terminan en los estigmas lilas. **E.** Flor de *M. auristipulata* que se le han retirado algunos pétalos y sépalos para poner de manifiesto la gran extensión de la corona. Nótese la menor extensión de los lóbulos del perianto de la corona misma. **F.** Detalle de una flor de *M. fasciculata* var. *fasciculata* exhibiendo similar morfología que el resto de las especies. **Fuente:** Kester Bull-Hereñu, 2018.

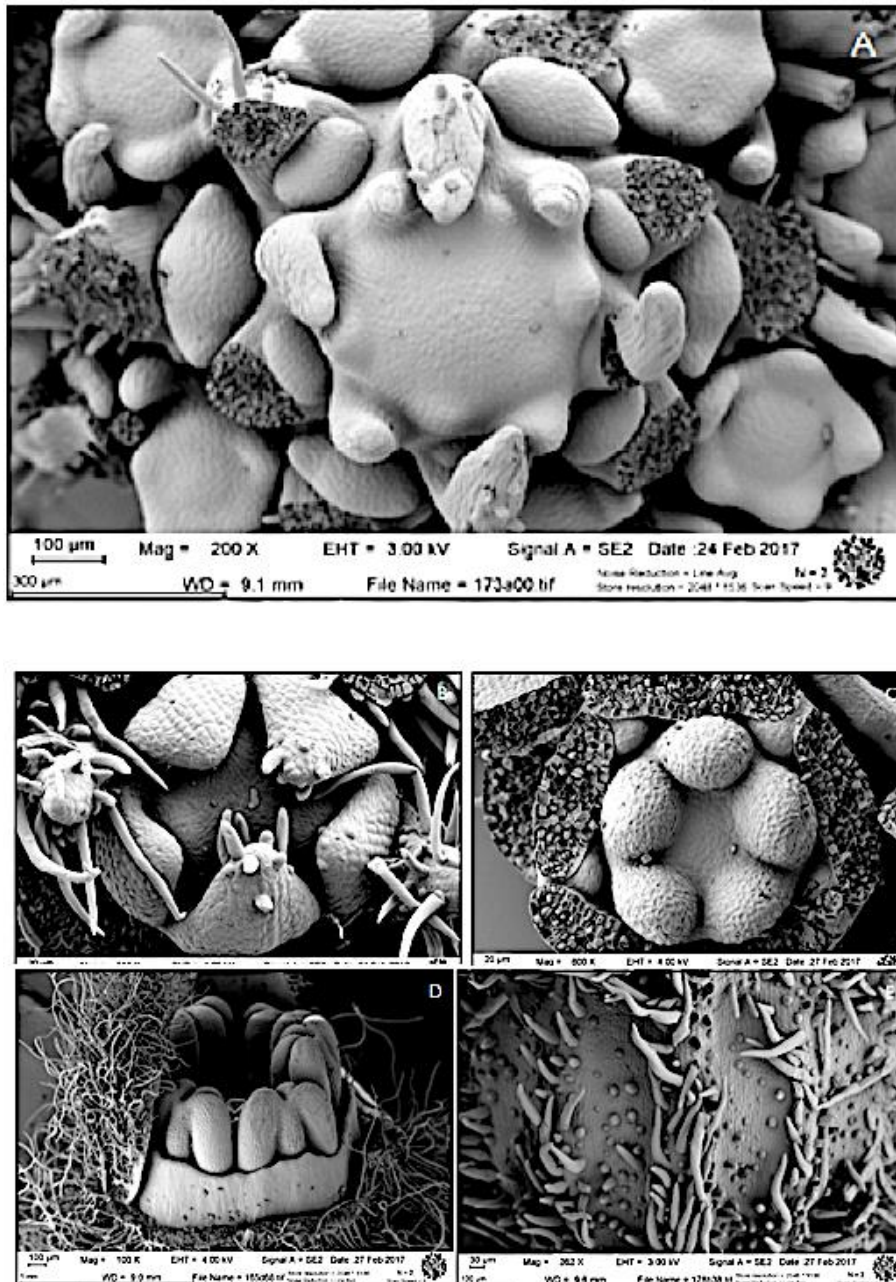
Esta lista de características hace a la flor de *Malesherbia* especial, ya que normalmente las flores tubulares suponen un tubo exclusivamente coralino (es decir que no porten a los sépalos) y que además mantengan a los estambres adosados a él. Esto puede apreciarse en taxa pertenecientes a las *Lamiales* como las llamativas flores tubulares de *Argilia*, *Mitraria*, *Desfontinia*, etc. Por otro lado, otras familias que si poseen flores son hipantos con lóbulos calicinos, como por ejemplo *Fuchsia* y *Oenothera* en las *Onagraceae*, o *Myrtaceae*, suelen inducir también a los estambres en la garganta del tubo. Si esto fuese poco, la presencia de la corona y



la existencia del Androginóforo se suman a la lista de características poco usuales dentro de las angiospermas (Echeñique, 2018).

## 2.5 Desarrollo floral

La génesis floral ocurre crípticamente al interior de los botones o yemas en la planta y su visualización es normalmente solo posible a través de la microscopía electrónica, la que arroja imágenes en blanco y negro. El nacimiento de los órganos florales en *Malesherbia* ocurre a una dimensión bajo el tercio de milímetro en el que se revelan interesantes imágenes orgánicas de inusitada simetría y atractivo aspecto. Así, es posible apreciar temporalmente el surgimiento del meristema floral (Fig.3A), los lóbulos del cáliz como primer órgano que aparece (Fig.3B), los pétalos como minúsculas emergencias (Fig.3C), las anteras en el centro de la superficie (Fig.3D), así como la corona (Fig.3E) alrededor de los estambres y la diversidad de tricomas (Fig.3F) (Kester Bull-Hereñu, 2018).

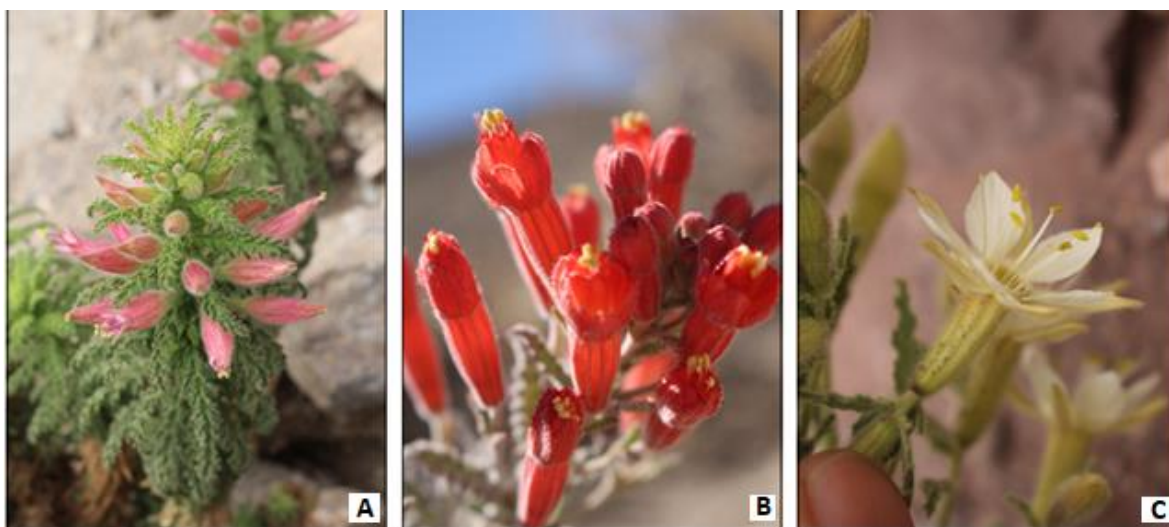


**Figura 3.** Desarrollo floral en *Malesherbia*. **A.** Jóvenes meristemas florales alrededor del meristema inflorescencial en *M. tocopillana*. **B.** Desarrollo de lóbulos del cáliz como primer órgano en formarse en *M. densiflora*.

**C.** Génesis de cinco pétalos vistos como minúsculas emergencias alternando a los más grandes y centrales primordios de estambres en *M. paniculata*. **D.** Corona rodeando a los jóvenes estambres en *M. auristipulata*. **F.** diversidad de tricomas en el exterior del hipanto en formación en *M. deserticola*. **Fuente:** Kester Bull-Hereñu, 2018.

## 2.6 Distribución, especiación y taxonomía

De las 16 especies que crecen en Chile, doce son endémicas al país, estando *M. auristipulata* y *M. tenuifolia* compartidas con el Perú y *M. humilis* y *M. lirana* con Argentina. Algunas de las especies endémicas crecen en áreas aisladas y territorialmente bastantes restringidas. Entre esta *M. tocopillana* (Fig. 4A) que solo se encuentra en las inmediaciones de Tocopilla en la región de Antofagasta y que por disponibilidades hídricas sujetas variaciones climáticas ha sido colectada en ocasiones (García y Leubert., 2005). También se destaca también *M. corallina* (Fig. 4B) que fue descrita recién en el año 2003 (Muñoz y Pinto, 2003) y avistada hasta ahora solo en las cercanías de Sibaya de la región de Tarapacá. También se puede mencionar a *M. densiflora* (Fig. 4C) restringida a la quebrada de Paipote en la región de Atacama (Ricardi, 1967).

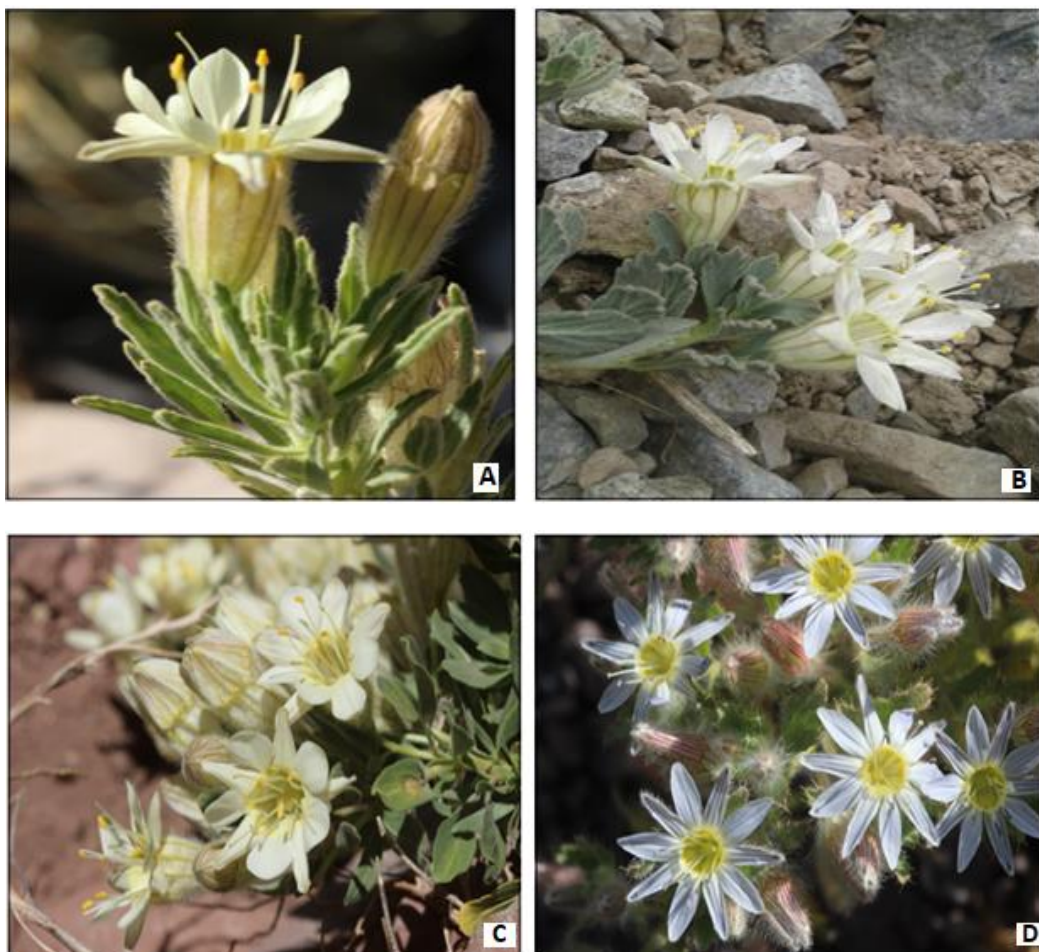


**Figura 4.** Especies de *Malesherbia* de distribución restringida. **A.** *M. tocopillana* en quebradas de las cercanías de Tocopilla con influencia marítima. **B.** *M. corallina* en las cercanías de Sibaya. **C.** *M. densiflora* en la quebrada de Paipote. **Fuente:** Kester Bull-Hereñu, 2018.

Estos microendemismos contrastan con la amplia distribución de otras especies como el arriba mencionado rango distribución de *M. humilis* (Fig. 1D), al cual se suman el de *M. lirana* (Fig. 5A-C), habitante a lo largo de unos kilómetros de la cordillera de los Andes desde la región de Atacama hasta la región Metropolitana, o como *M. fasciculata* (Fig. 1E, 2F) y *M. lactea* (Fig. 1H) que se extienden a lo largo de cerca de 600 km, la primera en los valles centrales entre la región de coquimbo

y del Libertador Bernardo O'Higgins, y la segunda en las planicies de altura asociadas a la cordillera de Domeyko desde la región de Antofagasta hasta Atacama (Echeñique, 2018).

En general, las especies de amplia distribución se subdividen a su vez en variedades que probablemente se han ido diferenciando concomitantemente a la extensión en los rangos de distribución y colonización de nuevos hábitats. La diferencia alcanzada hasta el momento entre estas poblaciones ha sido en realidad demasiado menor como para que a ojos de los taxónomos entiendan dichos grupos como especies distintas, sino que más bien prefieren mantenerlas como variedades dentro de las especies. Este es el caso por ejemplo de las tres variedades que crecen en Chile de *M. lirana*: *M. lirana* var. *bracteata* (Fig.5A) principalmente en la región de Atacama, *M. lirana* var. *lirana* (Fig. 5B) entre la región de Coquimbo y Metropolitana, y *M. lirana* var. *subglabrifolia* (Fig. 5C), que, aunque de amplia distribución en la vertiente de los Andes, solo se encuentra en escasa presencia en Chile en el valle del alto Maipo. Otro ejemplo es la especie anual *M. humilis* que en su extensión presenta cinco variedades, dentro de las cuales destaca *M. humilis* var. *propinqua* (Fig.5D) con sus conspicuas flores y que está restringida a los valles del Elqui y Limarí en la región de Coquimbo (Echeñique, 2018).

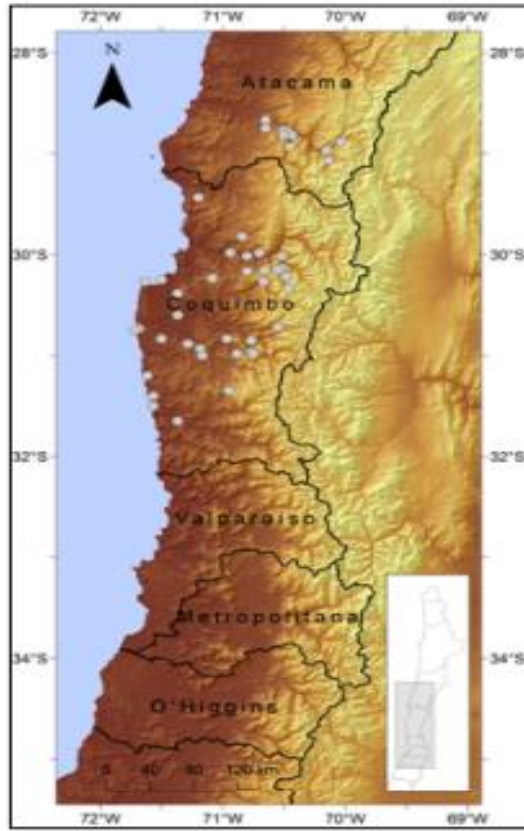
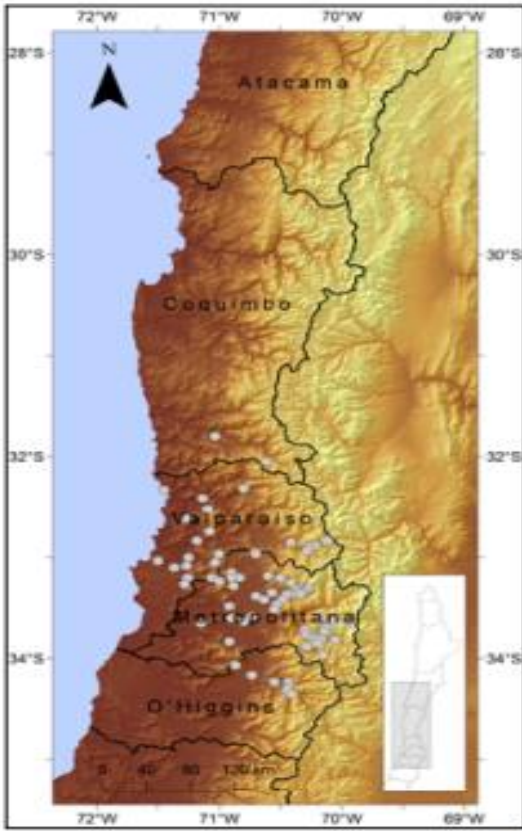


**Figura 5.** Variedades en especies de *Malesherbia* de amplia distribución.

**A.** *M. lirana* var. *bracteata*. **B.** *M. lirana* var. *lirana*. **C.** *M. lirana* var. *subglabrifolia*. **D.** *M. humilis* var. *propinqua*. **Fuente:** Kester Bull-Hereñu, 2018.

Un escenario de diferenciación geográfica con contrastes más acentuados entre taxas divergentes que sean considerados como especies distintas, podría reflejar el proceso de especiación finalizado. Probablemente este sea el caso entre *M. linearifolia* (Fig. 1G, 2A, B, 6A), presentes en cerros y valles de la región del Libertador Bernardo O'Higgins por el sur hasta el sur de la región de Coquimbo, y su especie hermana, *M. paniculata* (Fig. 1C, 6B) que se extiende desde esta zona hasta el norte de la región de Coquimbo. No sería de extrañar que en la zona limítrofe de ambas distribuciones existiesen ejemplares con características intermedias o con combinaciones de características inusuales. Ambos aspectos podrían estar explicados como el resultado de la hibridación entre ambas taxa en la zona adyacente. Esto trae como consecuencia que ejemplares colectados en estas zonas de transición no sean siempre fáciles de asignar en una u otra categoría. Es más, es probable que ejemplares de estas características colectadas en una misma localidad sean determinadas por algunos taxónomos como una especie y por otros como la alternativa. Un fenómeno artefactual de estas características en las bases de datos lleva a la larga a concluir que un mismo sitio o región es habitado por dos especies, cuando lo más probable es que se trate de una de ellas, o incluso de un taxon híbrido (Echeñique, 2018).

Tal vez el caso de mayor confusión o dificultad taxonómica de esta naturaleza se produzca en la región de Atacama entre los valles del río Salado y el río Copiapó en que, en una extensión latitudinal de unos 200 km habitan las especies *M. rugosa* (Fig.6C) y *M. obtusa* (Fig. 6D) a moderada altura (600 - 2000 msnm). Ambas especies se describieron originalmente en el sector sur de dicho territorio en los parajes del río Copiapó y no muy distante entre sí: la primera por Claudio Gay en las cercanías del actual tranque Lautaro, y la segunda, unos 40 años más tarde y 40 km río abajo por Rodolfo Philippi en la localidad de Pabellón. A esto se suma que hacia finales del siglo XIX en la Flora de Chile de Carlos Reiche (1898) se mencionaba al menos ocho especies distintas que habitaban la zona arriba descrita, reflejando probablemente reiterados procesos de especiación ocurridos en los diversos valles de esta región. Sin embargo, en el exhaustivo trabajo que hiciera Ricardi (1967) para la monografía del género, se sinonimiza la mayoría de ellas reduciendo el número de especies aceptadas para la zona solo las dos arriba mencionadas. No cabe duda que la diversidad morfológica de la zona (Fig. 6C-H), sumada a la posible hibridación entre tipos y la natural mezcla de caracteres han hecho bastante difícil procurar una determinación certera y consecuente a los ejemplares colectados en la zona (Op.cit).



A

B



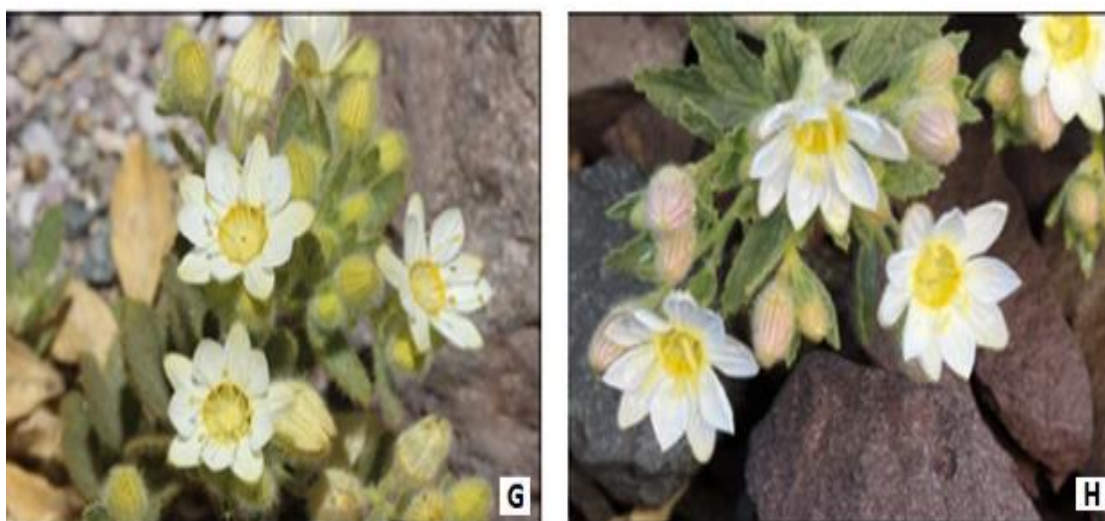
C

E



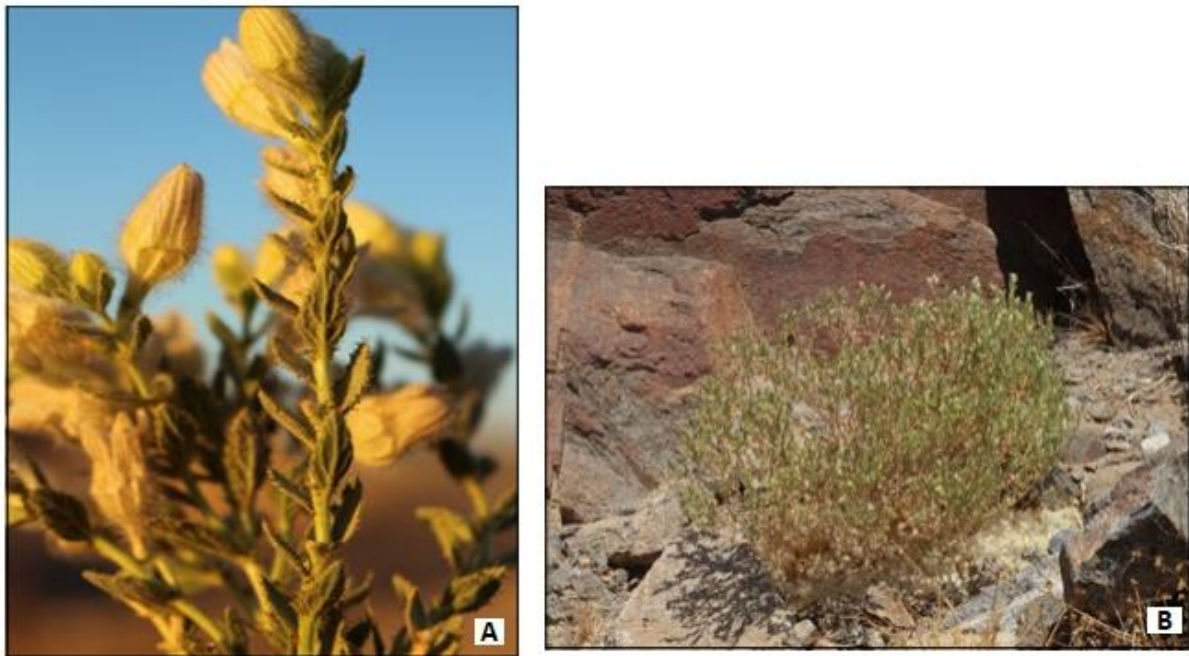
D

F



**Figura 6.** Especiación y variabilidad interespecífica. **A.** Mapa con sitios de colecta de *M. linearifolia* y de **B.** *M. paniculata* **C.** *M. rugosa* var. *rugosa* en su sitio tipo cercano al embalse Lautaro en la región de Atacama. **D.** *M. obtusa* var. *obtusa* cercano a su sitio tipo a orillas del río Copiapó. **E.** *M. rugosa* var. *rugosa* en el sector de la Puerta en la quebrada de Paipote. Nótese la gran diferencia respecto del sitio tipo. **F.** *M. rugosa* var. *pseudopulverulenta* en localidad tipo 20km al sur de Tierra Amarilla. **G.** *M. obtusa* var. *johnstani* en localidad tipo en Quebrada de Agua Dulce. **H.** *M. rugosa* var. *rugosa* en localidad cercana a Puquios. Nótese la variabilidad entre representantes de *M. rugosa* var. *rugosa* entre **C, E** y **H.** **Fuente:** Kester Bull-Hereñu, 2018.

Otra fuente de variación en las plantas de *Malesherbia* es el cambio de aspecto que puede sufrir la planta en su estructura vegetativa a lo largo de la temporada. Como los individuos aparentemente se encuentran en activo crecimiento y floración durante largo tiempo, no es poco común observar que ramas brotadas tardíamente presentan hojas y brácteas cada vez más pequeñas (Fig. 7A). Esto puede incluso tener dramáticos efectos en la especie anual *M. humilis* que puede pasar de tener un aspecto de pequeña y sutil hierba (Fig. 1D) a principios de temporada a convertirse en un cojín con múltiples ramas y diminutas hojas y flores, ya sea por las condiciones benignas de crecimiento y/o por encontrarse en un periodo tardío de la fenología (Fig. 7B). Esto mismo llevo a considerar durante mucho tiempo que ejemplares con estas características pertenecerían a la especie bajo el nombre de *M. multiflora*, asunto que Gengler-Nowak (2002) esclareció reconociendo dichos ejemplares como pertenecientes a las ya descritas variedades de *M. humilis* (Echeñique, 2018)



**Figura 7.** Variabilidad intraespecífica temporal en *Malesherbia*. **A.** *M. rugosa* var. *pseudopulverulenta* mostrando ramas con hojas y brácteas reducidas. **B.** *M. humilis* var. *parviflora* mostrando un hábito marcadamente ramificado. **Fuente:** Kester Bull-Hereñu, 2018.

## 2.7 Antecedentes generales de la Familia *Passifloraceae*

### 2.7.1 Características de la familia *Passifloraceae*

Passifloraceae corresponde a una familia perteneciente, según Cronquist (1988) al orden Violales, sin embargo, investigaciones recientes la sitúan en el orden Malpighiales. Es una familia constituida aproximadamente de 660 especies a nivel mundial, las cuales se encuentran distribuidas en 17 géneros, y estos, a su vez, se agrupan en dos tribus, Paropsieae y Passifloreae; el primero agrupa 6 de los 17 géneros y el segundo 11 de estos. De este total de géneros, solamente cuatro se encuentran en el continente americano (*Androsiphonia*, *Dilkea*, *Mitostemma* y *Passiflora*), todos pertenecientes a la tribu Passifloreae (Feuillet *et al.*, 2003).



**Figura 8:** *M. auristipulata* **A.** Hábito de crecimiento **B.** ramas con flores y hojas, **C** y **D.** Flor solitaria. **Fuente:** Benavides, 2019.

### 2.7.2. Distribución geográfica

Hasta el año 2002, Gengler-Nowak, describió 24 especies del género *Malesherbia*, las cuales viven en hábitats áridos del desierto costero del Pacífico y los Andes adyacentes de Argentina, Chile y Perú. Los taxones con distribución en Chile y Perú son raros; por esta razón, la familia proporciona un excelente estudio de caso para la biogeografía de esta región del oeste de Sudamérica. El análisis filogenético de los datos de la secuencia ITS, utilizando Turneraceae como grupo externo, muestra correlación entre la filogenia y la distribución de Malesherbiaceae. Kester Bull-Hereñu, 2020, actualizó los taxones de *Malesherbia* nativos en Chile, incluyendo 14 especies y 10 variedades; de las cuales 9 especies y 9 variedades son endémicas del territorio.

Habita en las quebradas pedregosas de la precordillera de la región de Tarapacá (Ricardi 1965, 1967), entre 1.800 msnm hasta alrededor de 2.500 msnm. La mayoría de los registros provienen de la cuesta El Águila en el sector de Quebrada de Cardones, Región de Arica y Parinacota, donde comparte su hábitat con el cactus



candelabro (*Browningia candelaris*) (Riedemann *et al.*, 2006). Crece en cursos someros formado por aluviones donde en algún momento hubo paso de agua (Belmonte, 2011).

### 2.7.3. Condiciones edafoclimáticas

*Malesherbia auristipulata* se desarrolla en climas desérticos, de escasez de agua y extensa sequía. Las precipitaciones en su hábitat natural son de tipo estival altiplánica. Ésta es una clásica precipitación que ocurre en la zona altiplánica del Norte Grande que se concentra en los meses de noviembre y marzo. Durante este periodo, la precipitación es originada por tormentas convectivas (masa de aire que ascienden) que se desarrollan durante la tarde y primeras horas de la mañana. Los días con episodios lluviosos tienden a agruparse en secuencias de alrededor de una semana, separadas por episodios secos de similar duración (ONEMI, 2012). En un registro publicado (Agromet, 2012), se indica que, entre un periodo estival a otro, las precipitaciones pueden variar de 100 y 200 mm en un par de días. En 2018 se registró una precipitación acumulada de 126,8 mm, mientras que en 2019 se registró una precipitación acumulada de 208,6 mm (Agromet, 2019). También el agua es proporcionada por la humedad relativa del lugar, y la captación de ella en rocas y sus relieves.

Los periodos de luz son amplios, considerando que se desarrolla en un clima desértico, se puede extender hasta 12 horas en invierno, y de alta intensidad ya que no existe ningún tipo de vegetal que proyecte sombra ni sombra intervenida por el hombre, considerando que la radiación es intensa, no es perjudicial en su desarrollo. Belmonte (2011), estipula que se desarrolla en lugares donde alguna vez hubo paso de agua, es decir, el suelo en el que crece está cubierto por sedimentos arenosos y aluviones de rocas y piedras arrastrados por las bajadas eventuales (Tabla 1).

Los detalles de los registros ambientales se indican en la Tabla 1.

**Tabla 1:** Registro de parámetros ambientales de cuesta El Águila (2018 y 2019).

Año	Velocidad del Viento (Km/h)	Radiación Solar (Mj/m <sup>2</sup> )	Temperatura Suelo 10cm (°C)	Presión (mbar)	Número de horas de frío
2018	7,2	22,5	24,5	913,7	141
2019	6,5	22,4	24,7	913,6	54

**Fuente:** Agromet, 2019.

## 2.8 Estructura de las semillas

La semilla constituye una de las innovaciones más importantes de las plantas vasculares que surgieron durante el curso de la evolución. Es uno de los elementos responsables del dominio actual de las plantas superiores en la flora del planeta. Cuando se examina una semilla inmadura, se ve que tiene una serie de tegumentos

o capas que la protegen, así como una gran cantidad de sustancias nutritivas almacenadas. De este modo, el ovario no solo protege del ambiente al gametofito femenino, sino que también suministra nutrientes y energía a la nueva plántula que surge cuando la semilla germina. Tales condiciones parentales permiten la mejor adaptación de las plantas vasculares al medio y hacen posible el predominio de un grupo vegetal sobre otro. La evolución de la semilla constituye un mecanismo invaluable de adaptación a la vida en la Tierra (Hartmann *et al.*, 1990).

La cubierta o testa (epispermo) de la semilla protege al embrión de muchas inclemencias del ambiente. El embrión puede permanecer latente durante mucho tiempo, hasta que existan condiciones adecuadas para germinar y disponibilidad de sustancias de reserva que le brinden energía hasta que la planta pueda sobrevivir por si misma (Hartmann *et al.*, 1990).

### **2.8.1. Latencia de la semilla**

Sanabria *et al.* (2004), señalan que el estado de latencia es un mecanismo de supervivencia ante la presencia de condiciones ambientales desfavorables, tales como, temperaturas muy bajas, alternancia de épocas secas y húmedas y, climas desérticos. Courtis (2013), indica que factores intrínsecos (embriones fisiológicamente inmaduros, inhibidores, presencia de tegumentos duros, viabilidad de las semillas) y extrínsecos (ambiente, agua, temperatura y gases) inducen latencia. Por otro lado, Madueño *et al.* (2006), afirman que cuando existe latencia, se debe a condiciones de la testa y el letargo termina en el momento en que ésta se agrieta o debilita por acciones mecánicas o químicas o por el efecto del ambiente. Existen dos tipos de latencia, una es la latencia impuesta (ambiental), en que las semillas no germinan porque las condiciones no son las más apropiadas para ello. Otra es la latencia innata (endógena), en que las semillas no germinan, aunque se encuentren en un ambiente favorable, debido a la existencia de ciertas condiciones endógenas que se lo impiden. Este es el mecanismo que generalmente se conoce como latencia de semillas (Madueño *et al.*, 2006).

### **2.8.2. Germinación de la semilla**

La propagación por semillas es uno de los métodos principales de reproducción de las plantas en la naturaleza y uno de los más eficientes y más utilizados en propagación de plantas cultivadas. A las plantas obtenidas por semillas se les llama plántulas, un término que en horticultura puede aplicarse durante toda la vida de la planta, aunque en botánica se aplica más específicamente al periodo inmediato que sigue a la germinación. Ese proceso de desarrollo se inicia con la fusión de los

gametos masculino y femenino para formar, dentro del ovario de la flor, una sola célula (el cigoto) (Hartmann *et al.*, 1990).

Según Courtis (2013) y Moreno-Martinez (1996), la germinación se define como la emergencia y el desarrollo de aquellas estructuras esenciales que provienen del embrión y que manifiestan la capacidad de la semilla para producir una planta normal bajo condiciones favorables. La aparición de la radícula o raíz embrionaria es el evento que evidencia el fenómeno de la germinación. El siguiente en emerger es el hipocotilo, el cual lo hace en forma de gancho invertido, acción empleada para proteger la delicada punta del tallo.

### **2.8.3. Escarificación**

Proceso que consiste en raspar o desgastar el epispermo o testa (mecánica o químicamente) antes de la siembra, para inducir la germinación. En el ambiente natural, ocurre en el momento en que las semillas pasan por el aparato digestivo de algunos animales; también se produce por la digestión del epispermo por bacterias (Coa *et al.*, 2014) o por el desgaste mecánico a que son sometidas las cubiertas seminales por el efecto abrasivo de la superficie de piedras o arena.

### **2.8.4. Escarificación química**

Consiste en el uso de ácido sulfúrico concentrado que debilita y degrada las cubiertas seminales rompiendo la latencia de la cubierta. (Hartmann y Kesler, 1990)

### **2.8.5. Escarificación mecánica**

Consiste en utilizar un medio eléctrico o algún elemento de corte, que desgaste los tegumentos y permite la entrada de humedad a la semilla una vez sembrada. Para grandes cantidades de semillas no es práctico el uso del tratamiento (Coa *et al.*, 2014).

### **2.8.6. Escarificación Térmica**

Método que facilita el ablandamiento de la testa de la semilla, en agua a temperaturas (45 y 70°C) por 24 horas para luego proceder prontamente a la siembra. Schmidt (2000) y González *et al.* (2005), señalan que los tratamientos de inmersión de las semillas en agua caliente son ampliamente utilizados y se obtienen resultados favorables, similares a los de escarificación química.

### 2.8.7. Estratificación

Método que simula las condiciones invernales, considerando que algunas semillas necesitan este estímulo para iniciar la germinación. Este método consiste en mantener, durante un periodo de tiempo, las semillas a temperaturas de 5°C, promoviendo la germinación, tal como señala Balaguera *et al.* (2010).

## 3. MATERIALES Y MÉTODO

### 3.1 Materiales

Para esterilizar materiales e instrumentos experimentales, tales como algodón, agua destilada, arena, turba, puntas para micropipetas, placas de Petri, vasos precipitados y para la preparación de medios de cultivo, se utilizó autoclave.

Para masar reactivos y elementos propagativos, tales como Nitrato de potasio (KNO<sub>3</sub>)- 0,5 gramos, Cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio – 0,1 gramo, Auxinas indol acético (AIA) – 0,5 gramos, Acido Giberélico (AG3) – 0,001 gramos, se utilizó balanza analítica. Además, se utilizó mechero bunsen, sacarosa, vitaminas y nutrientes, añadidos con espátula y/o pipeta, según correspondió.

Para la desinfección de las semillas se utilizó hipoclorito concentrado 5,25%, agua destilada y cloruro de sodio. Para esterilizar instrumentos tales como bisturí, pinzas, espátula de metal, tijeras de disección y se trabajó con mechero Bunsen y cámara de flujo laminar, con delantal, mascarilla y guantes.

Los sustratos que se ocuparon en cada metodología fueron, agar agua (A.A), arena, turba+ perlita (esterilizada) y suelo de la cuesta de El Águila.

Se trabajo bajo microscopio estereoscópico (Lupa) para la disección de las semillas y observación de germinación de ellas, también para conformar la tinción de la prueba de tetrazolio.

### 3.2. Metodología

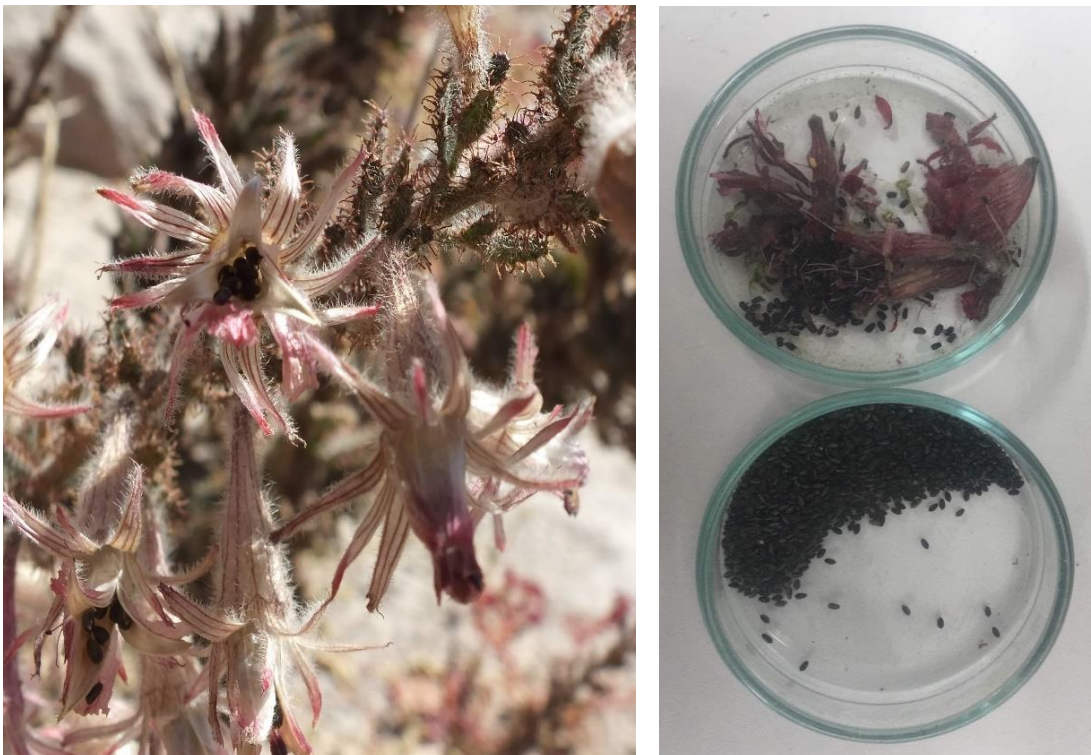
#### 3.2.1. Colecta de material vegetal

La primera colecta de semillas de la población de *Malesherbia auristipulata* Ricardi se hizo en la cuesta El Águila, sector Quebrada de Cardones, a 1.800 msnm, región de Arica y Parinacota. Las semillas se obtuvieron de flores maduras que se encuentran en su periodo de fructificación, colectando semillas mensualmente.

Paralelamente, se registro el desarrollo fenológico de la planta. Las semillas se guardaron en frascos de vidrios, debidamente rotulados, en laboratorio de Fitopatología, ubicado en la Parcela N°27 de la Colonia Juan Noé, km 12 de la carretera A-27 del valle de Azapa.

Las semillas se limpiaron de restos de material vegetal que pueda tener en su cubierta o de aquellas que vengan dentro del receptáculo floral, y se agruparon en cantidades iguales o semejantes, para los distintos procesos de germinación a que se sometieron (Figura 9 A y B).

Para evaluar el efecto del despunte de semillas previamente desinfectadas con alcohol 95%, hipoclorito de sodio 2%, alcohol al 20% y agua estéril (2 enjuagues) todo esto por 2 minutos, fueron sometidas a 3 tratamientos pregerminativos de despunte apical con bisturí. Se incluyó un testigo T0: sin frio y a temperatura ambiente, con dos tratamientos T1: 48 horas frio y T2: 72 horas frio a 4°C, usando 30 semillas por tratamiento, 90 en total con 3 repeticiones; Cada repetición consistió en placas de Petri con agar agua, donde se colocaron 10 semillas por placas y se cubrieron con papel aluminio, situándose en el refrigerador con temperatura de 4°C y las T0 en el mesón de laboratorio a una temperatura constante entre los 23° a 25°C.



**Figura 9:** Flores maduras de *M. auristipulata* **A.** Flores maduras **B.** Semillas recolectadas en terreno. **Fuente:** elaboración propia.

### 3.2.2. Prueba de viabilidad

Para comprobar la viabilidad del embrión se aplicó el test de tetrazolio (TZ) (Ruiz, 2009). Para ello, primero las semillas se embebieron en agua por 10 minutos, luego se cortaron transversalmente con bisturí y se sumergieron en una solución de tetrazolio al 1%, por 18 horas, dispuestas en placas de Petri, permaneciendo en oscuridad. Al cabo de este tiempo, los tejidos embrionarios vivos se tiñeron de rosado, permitiendo determinar semillas viables. En este estudio se trabajó con 90 unidades experimentales y 3 repeticiones, definiendo como unidad experimental a una placa de Petri con 30 semillas.

### 3.2.3. Pruebas de germinación

Para determinar la germinación de las semillas, se evaluó la influencia de los sustratos y nutrición en la germinación, sobre la semilla. Para ello, se sembraron semillas de *Malesherbia auristipulata* en bandejas de germinación con turba (Peat moss 25 Kg) esterilizada. A las bandejas sembradas se les aplicó una solución nutritiva con vitaminas, nutrientes y glucosa (0,5 g de  $K_2HPO_4$ , 0,2 g de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,1 g de NaCl, 0,02 g de  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ , 0,5 gr de agar. 2ml de solución de micronutrientes, 2ml de azul de bromotimol (0,5% en KOH 0,2 N): 4ml de Fe (III) - EDTA (1,64% p / v) y 1 ml de solución de vitamina. El pH se ajustó a 6,8. Solución de micronutrientes contenida (por litro): 0,4 g  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ , 0,12 g  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ , 1,4 g  $H_3BO_3$ , 1,0 g  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ . y 1,5 g de  $MnSO_4 \cdot H_2O$ . La solución de vitamina consistió (mg por litro): 100 mg de biotina y 200 mg de piridoxal HCl) y, la otra bandeja se regó con agua destilada (Muñoz *et al.*, 2020). Luego estas bandejas se incubaron a una temperatura de 26,5 a 27,7 °C, observando la respuesta durante 3 semanas.

En el segundo experimento, se estudió el efecto de diferentes estímulos en la germinación de las semillas.

Antes de realizar este experimento se procedió a desinfectar las semillas en alcohol al 95%, hipoclorito de sodio al 2%, alcohol al 20% y agua esteril realizando 2 enjuagues, por 2 minutos en cada etapa.

- Luz

Para determinar el efecto de la luz ambiental en la germinación, se dispusieron en placa Petri 30 semillas de *M. auristipulata* que contenían turba, perlita, arena, algodón y suelo de la Cuesta el Aguila. 1 de las 3 placas Petri se expuso a luz ambiente continua por 24 horas y otra placas de Petri se cubrió con papel aluminio para asegurar oscuridad en su interior. Ambas placas estuvieron a un temperatura ambiente aproximada de 24°C. Un tercer grupo de semillas, se sembró en placas de Petri con agar agua (AA) y se incubó en estufa a 27,7 °C, durante dos meses.

- Radiación PAR

Para evaluar el efecto de la radiación PAR ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{seg}$ ) en la germinación de semillas, se dispusieron de 30 semillas en 3 placas de Petri con agar agua (AA) y se sometieron a diferentes intensidades lumínicas en una cámara de flujo activa fotosintética. Se trabajó con dos intensidades, 150 y 320 PAR, por un periodo de 16 horas de radiación y 8 horas de oscuridad, a una temperatura de  $23,6^\circ\text{C}$ . Se consideraron 3 repeticiones por tratamiento.

- Fitoreguladores

Para evaluar la influencia de dos fitoreguladores en la germinación de las semillas de *M. auristipulata*, se trabajo con ácido indol acético (AIA) y ácido giberélico (AG3), dispensados en agar agua (AA), en concentraciones de 0, 500, 1.000 y 1.500 ppm. En cada placa se colocaron semillas separadas en grupos por su fecha de colecta y por la posición en el tallo (distal o proximal). Todas las semillas se desinfectaron superficialmente con lavados de hipoclorito de sodio al 2% durante 5 minutos y tres lavados posteriores con agua destilada estéril.

Las placas se incubaron a  $27,7 \pm 2^\circ\text{C}$ . Los parámetros que se evaluarón fueron: la germinación, relacionada con la posición en el vástago floral y fecha de colecta.

- Escarificación

La esscarificación de las semillas consistió en raspar la testa mediante tres procesos abrasivos diferentes (químico, térmico y mecánico).

La esscarificación química consistió en sumergir las semillas de *M. auristipulata* en ácido sulfúrico concentrado por 0, 5, 10, 15 y 20 segundos. Las semillas tratadas se lavaron dos veces en agua destilada estéril y se sembraron en agar agua (A.A), incubándolas a  $27,5 \pm 2^\circ\text{C}$  por dos semanas. En esta etapa se evaluó la velocidad germinativa y la cantidad de semillas germinadas en 14 días.

La esscarificación mecánica consistió en el tratamiento abrasivo con arena esterilizada (recolectada del lecho del río San José, valle de Azapa) donde se agitaron 90 semillas en un tubo de ensayo Falcon 50, a mediana intensidad con un agitador, durante 5 minutos. Las semillas tratadas se pasaron por lija y arena y se sembraron en agar agua (AA) en una estufa a  $30^\circ\text{C}$ . Se evaluó la germinación de este método dentro de 4 semanas.

### 3.2.4 Tratamiento germinativo de semillas en 48 horas frío a 4°C

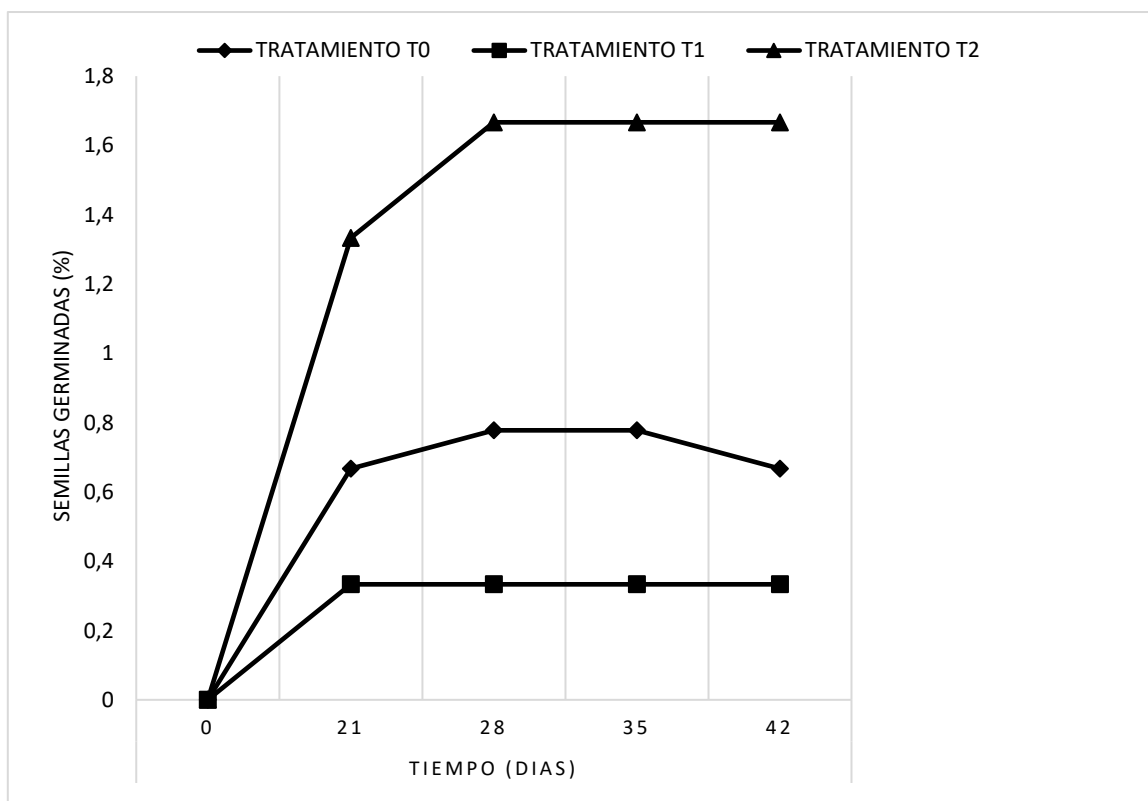
En este experimento el factor de variación fue el tiempo a 4°C, donde se dividieron en 3 tratamientos de 10 semillas por placa. T0, escarificación mecánica (arena) y química (KNO<sub>3</sub>) a temperatura ambiente. T1, mismo procedimiento anterior, pero a 48 horas a 4°C y T2, a 72 horas a 4°C.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Germinación de semillas

#### 4.1.1. Tratamiento germinativo de semillas en 48 horas frío.

En un periodo aproximado de 28 a 30 días las semillas de *M. auristipulata* sometidas a 4°C por 48 horas, a escarificación mecánica y química (KNO<sub>3</sub>) por 12 horas presentaron un comportamiento parabólico como se demuestra en la (Figura 10).

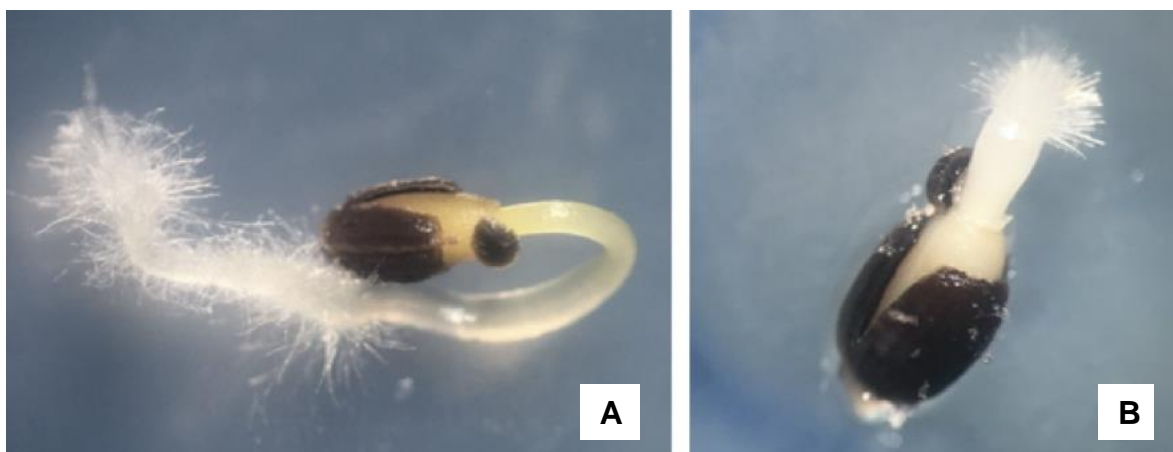


**Figura 10:** Germinación de semillas de *M. auristipulata* sometidas por 48 horas frío a 4 °C. **Fuente:** elaboración propia.

El tratamiento de escarificación mecánica y química a 72 horas por 4°C (T2) presentó mayor porcentaje de germinación (Figura 11 A y B), alcanzando 1,66% de germinación a los 28 días de incubación. El tratamiento de escarificación mecánica y KNO<sub>3</sub> de 48 horas a 4°C (T1), presentó 0,33 % de germinación, sugiriendo efecto deletéreo del tratamiento sobre la germinación de semillas al presentar resultados



menores al tratamiento de escarificación mecánica y química con  $\text{NO}_3$  a temperatura ambiente (T0 testigo). Por otra parte, en los tratamientos germinativos de 48 horas frío del día 28 de octubre al 22 de noviembre de 2019, en placas de agar agua (AA), se aprecia una contaminación de *Rhizopus nigricans* en placas de T0 y T2 muy notorias y leves en las otras placas. La germinación fue desproporcional entre tratamientos 48 horas frío y 72 horas.



**Figura 11.** Semilla de *M. auristipulata* Germinadas. A y B: Radícula en diferentes estados de desarrollo. **Fuente:** elaboración propia.

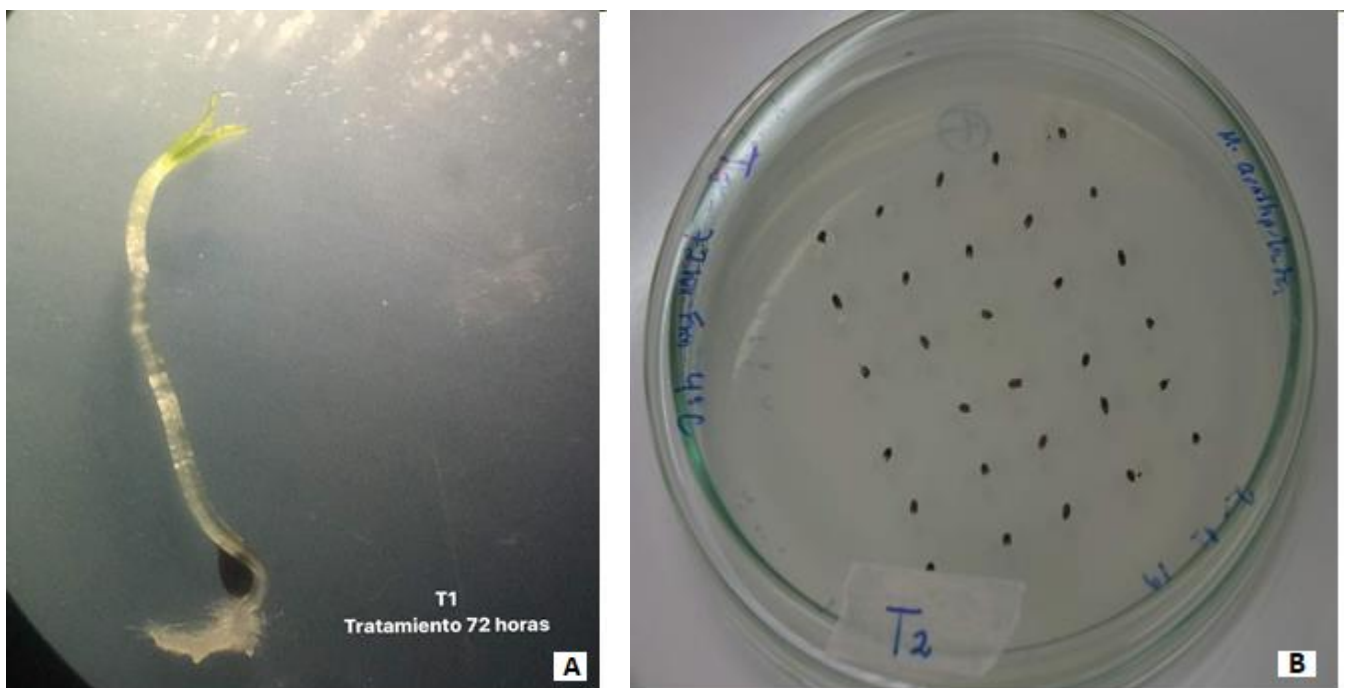
#### 4.1.2. Efecto de la hidratación sobre la germinación de semillas de *M. auristipulata*.

El efecto del nitrato de potasio en las semillas por 6, 24, 48 y 72 horas a  $4^{\circ}\text{C}$ , se reflejó en que el T0 alcanzó a 7% de germinación, mientras que cuando se evaluó 4 en 42 días, se incrementó un 1%, llegando al 8% de germinación. El T1 alcanzó sólo el 3% de germinación en todo el período de evaluación (Tabla 2).

**Tabla 2:** Semillas germinadas de *M. auristipulata* embebidas en  $\text{KNO}_3$  por tiempo diferencial y sometidas a tres períodos de frío.

Exposición a 4°C (Horas)	Semillas germinadas después de ser embebidas en $\text{KNO}_3$ (Número de semillas)									
	6					24				
	Tiempo (Horas)					Tiempo (Horas)				
	0	21	28	35	42	0	21	28	35	42
0	0	3	3	3	3	0	10	13	13	13
48	0	7	8	8	7	0	7	7	10	10
72	0	13	17	17	17	0	20	23	23	23

Los resultados que más destacaron por su diferencia tanto entre 6 y 24 horas de imbibición en nitrato de potasio ( $\text{KNO}_3$ ) fue el tratamiento T2 (Figura 12). Cuando se evaluó después de 21 días, la germinación se mantuvo en 13% de promedio de germinación, y el de 24 horas en los mismos días alcanzó un 20%, rango que a los 28 días tuvo un contraste significativo con un porcentaje de 17% en las primeras horas y 23% en 24 horas de imbibición, donde se mantuvieron ambos tratamientos hasta los 42 días con el mismo porcentaje.



**Figura 12.** Tratamientos de imbibición 6 y 24 horas de Nitrato de potasio ( $\text{KNO}_3$ ) en 72 horas frío a 4°C. **Fuente:** Elaboración propia.

#### 4.1.3. Escarificación mecánica mediante el despunte de semillas de *M. auristipulata*.

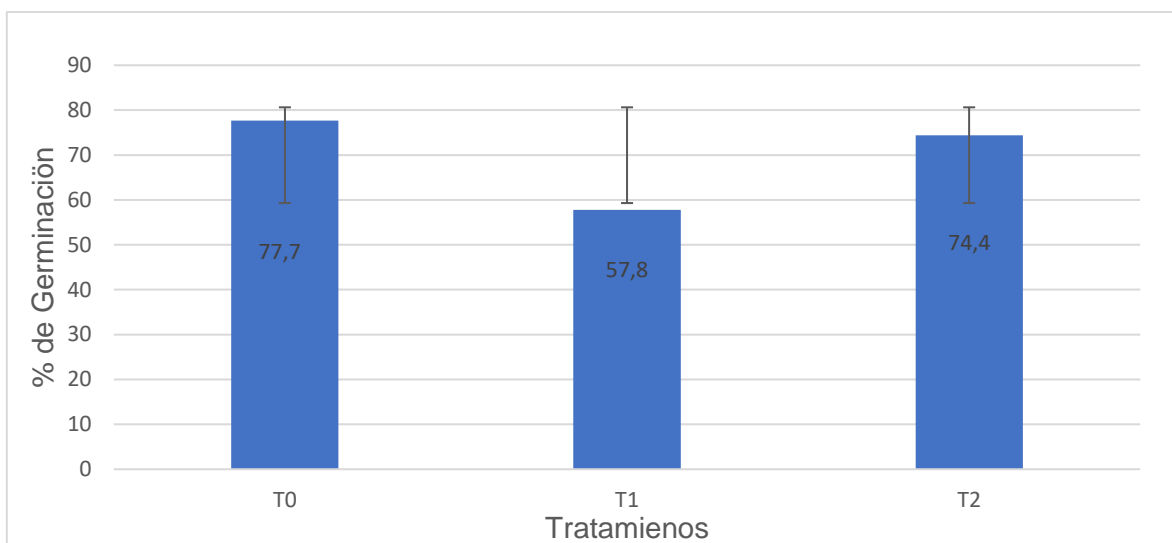
En la Tabla 3, se presenta el porcentaje y desviación estándar de germinación a través de dos fechas del 2 al 5 de diciembre del 2019 y el día 30 de diciembre al 17 de enero 2020, siendo el segundo la repetición del tratamiento anterior. En forma unitaria el que mejor porcentaje tuvo de los tratamientos fue el T1 con 28% y T2 con el mismo porcentaje, la diferencia con el Tratamiento T0 o testigo fue de un 27%.

**Tabla 3:** Valores totales de Germinación de semillas de escarificación mecánica manual. Despunte apical desde el 2 al 5 de diciembre del 2019. Cada valor representa el promedio de una repetición.

Tratamientos	T0 (sin frio)	T1 (48 hrs a 4°C)	T2 (72 hrs a 4°C)
Semillas germinadas	23 ± 5,09	25 ± 19,54	23 ± 16,80
Semillas germinadas (%)	77,7	57,8	74,4

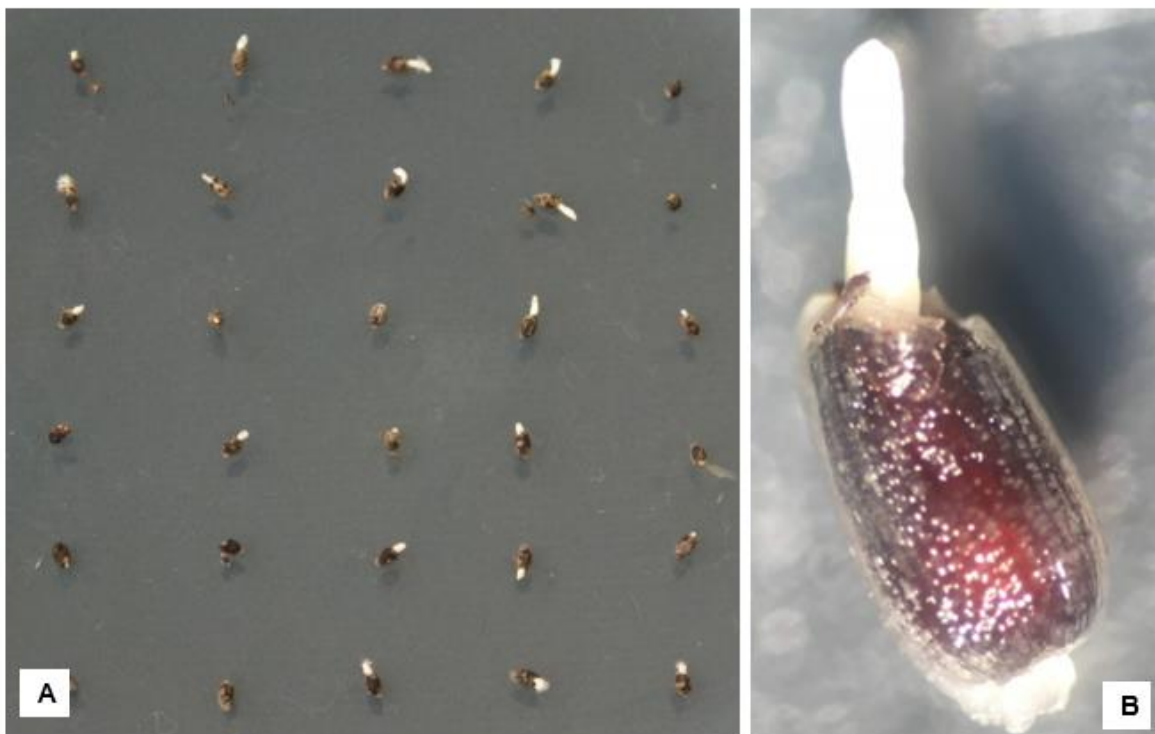
Debido al alto porcentaje de germinación de la primera evaluación (2 al 5 de diciembre 2019), la misma evaluación se replicó con 90 semillas y 3 repeticiones de 10 semillas cada una, las que se desinfectaron con alcohol al 95%, hipoclorito de sodio al 2%, alcohol al 20% y agua estéril (2 enjuagues) por 2 minutos, luego se realizó el despunte apical con bisturí y se dispusieron en placas de Petri con Agar Agua.

En las Figuras 13 y 14, se presentan el efecto de la escarificación en la germinación por tratamiento. Estos resultados contrastan significativamente con los resultados de pruebas anteriores, T0 alcanza 77,7% de germinación, siendo uno de los tratamientos con mayor germinación. Por otra parte, los tratamientos T1 presentó menor germinación, con 57,8%, mientras que el T2 alcanzó el 74,4% de germinación, demostrando que el despunte apical mejora la eficiencia germinativa.



**Figura 13.** Germinación (%) de semillas de *M. auristipulata* escarificadas mecánicamente. Cada barra representa el promedio de 6 repeticiones.

También, dilucidar que, de las 90 semillas de muestra poblacional la germinación total del tratamiento T0 es del 77,7% con una tendencia a variar por debajo o por encima del 5,09%. Al igual que el tratamiento T1 y T2 con un total de 57,8 y 74,4 % con una propensión de 19,54 y 16,80% respectivamente (Figura 14 A y B). El tratamiento T0 (sin frío) se diferencia del resto debido a que logra presentar semillas germinadas a un tiempo de evaluación menor que los otros tratamientos.



**Figura 14.** Tratamiento de escarificación mecánica despunte apical de semillas T0: sin frío a 4°C **A** y **B** semillas germinadas. **Fuente:** elaboración propia.

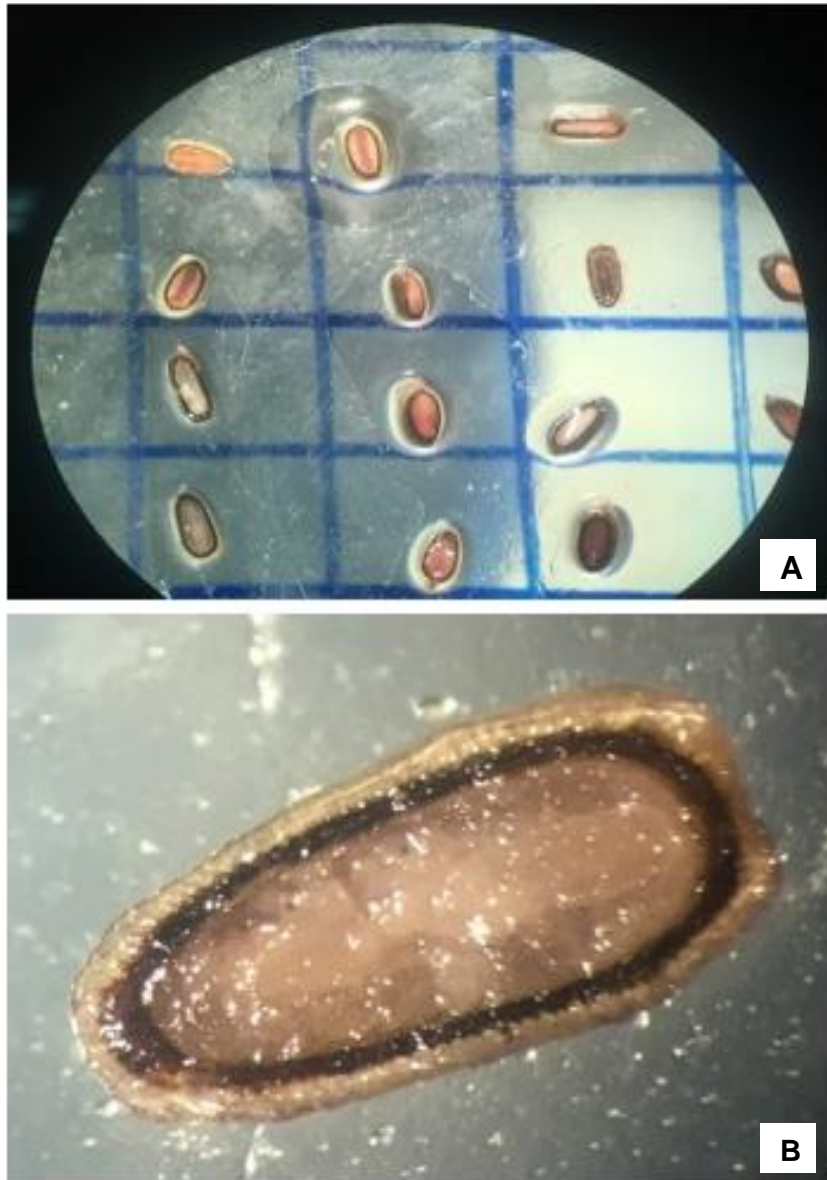
#### 4.1.4. Prueba de viabilidad de semillas mediante Tetrazolio (TZ).

Procedimientos de análisis de la prueba de viabilidad de semillas mediante tetrazolio (TZ) (Figura 15, Tabla 4). La prueba de viabilidad revela una serie de aspectos esenciales para conocer, no solamente la calidad del lote, sino que también puede servir de guía para identificar otros factores que pueden afectar a las semillas; entre ellos la dormancia, que suele ser la causa de una menor germinación. En la prueba realizada en dos fechas de evaluación donde se ocuparon 60 semillas por ensayo.

Hidratación: para iniciar la actividad las semillas deben embeberse durante 10 minutos.

Corte o pinchazo: permite el control del tetrazolio (TZ) con los tejidos embrionarios.

Tinción: se sumergen en tetrazolio al 1%, por un cierto periodo de tiempo, puede oscilar entre de 2 a 18 horas, depende de la especie



**Figura 15.** Tinción de tetrazolio en el embrión de semillas de *M. auristipulata*. **A.** resultado de tinción de semillas **B.** semilla corte transversal teñida. **Fuente:** elaboración propia.

**Tabla 4:** Prueba de viabilidad con Tetrazolio (TZ al 1%) en semillas de *M. auristipulata* en dos fechas de evaluación (1 de agosto y 12 de septiembre de 2019).

Fecha de Evaluación	Parámetro	Test Tetrazolio	
		Positivo	Negativo
1 agosto 2019	Cantidad semillas	16	14
	Porcentaje (%)	53,3	46,7
12 septiembre 2019	Cantidad semillas	23	7
	Porcentaje (%)	76,7	23,3

## 5. CONCLUSIONES

Considerando los resultados de los tratamientos de escarificación y estratificación de semillas de *M. auristipulata*, se acepta la hipótesis experimental, ya que esta especie tiene una dormancia latente o dormancia doble, la que se quiebra al llegar a la combinación exacta entre temperatura, humedad y luz (y otros factores), tal como lo haría normalmente en su hábitat natural de la precordillera.

Los parámetros evaluativos que se establecieron para los métodos pre-germinativos utilizados en cada tratamiento fueron replicas para emular el hábitat donde prevalece esta especie, para romper la dormancia que presentan las semillas, teniendo en consideración que el tratamiento más eficaz fue el de escarificación mecánica con el método de despunte apical de semillas, pero considerando que el corte debe ser exacto porque de no ser así se corta parte de la radícula del embrión dañándolo por completo y descartando una semilla para el experimento. Por otra parte, el tratamiento de remojo en nitrato de potasio más agua y 72 horas de frío a 4°C, obtuvo buenos resultados, ya que se le otorga a la semilla condiciones similares a las que tiene en su ambiente natural, y favorece la germinación de ésta, sumando el corte apical, es una buena técnica para obtener germinación de semillas que poseen una cubierta rígida.

## 6. BIBLIOGRAFIA

Agromet. 2012. Obtenido de Red agrometeorológica del INIA: <http://agromet.inia.cl/estaciones.php>

Agromet. 2019. Obtenido de Red agrometeorológica del INIA: <http://agromet.inia.cl/estaciones.php>

APG IV - Angiosperm Phylogeny Group. 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society* 181: 1-20.

Balaguera, E.; Álvarez, J. y Cárdenas, J. 2010. Efecto de la estratificación fría y la cobertura plástica en semillas de gulupa (*Passiflora edulis* Simis) para la obtención de plántulas. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* 13(2): 89-97.

Belmonte, E. 2011. Ficha de antecedentes de especie *Malesherbia auristipulata*. Citado el 04 de noviembre de 2014. Disponible en: [http://www.mma.gob.cl/clasificacionespecies/fichas9proceso/FICHAS\\_INICIO\\_9o PROCESO\\_PDF/Malesherbia\\_auristipulata.pdf](http://www.mma.gob.cl/clasificacionespecies/fichas9proceso/FICHAS_INICIO_9o PROCESO_PDF/Malesherbia_auristipulata.pdf)

Beltrán, H.; Roque, J. & Cáceres, C. 2018. Sinopsis del género *Malesherbia* (Passifloraceae) en el Perú. *Revista peruana de biología* 25: 229-240.

Bull-Hereñu, K. 2020. The genus *Malesherbia* Ruiz & Pav. (Passifloraceae) in Chile. *Phytotaxa* 468 (1):1-44.

Coa Urbaez, M.; Méndez Natera, J. R.; Silva Acuna, R. y Mundarain Padilla 2014. Evaluación de métodos químicos y mecánicos para promover la germinación de semillas y producción de fosforitos en café (*Coffea arabica*) var. Catuaí Rojo. *Idesia* 32(1): 43-53.

Courtis, A. 2013. Germinación de semillas. Guía de estudios de la Universidad Nacional del Nordeste, Argentina (UNNE). Cátedra de Fisiología Vegetal. Argentina. p. 16-18.

Cronquist, A. 1988. The evolution and classification of flowering plants. 2ª edición. New York Botanical Garden, Bronx. 555 p.

Delanoy, M.; P. Van Damme; X.; Scheldeman and J. Beltran. 2006. Germination of *Passiflora mollisima* (Kunth) L. H. Bailey, *Passiflora tricupis* Mast. And *Passiflora nov* sp. *Sedes Scientia Horticulturae* 110(2): 198-203.



Dubrovsky, J.G. 1998. Discontinuous hydration as a facultative requirement for seed germination in two cactus species of the Sonoran Desert. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 125: 33-39.

Ellis, R.; Hong, T. and E. Robrechts. 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. 715p.

Engler A. 1894. Die Natürlichen Pflanzenfamilien. III Teil, 6. Abteilung a, pp 65-68.

Feuillet. C. MacDougal. J. 2003. A new infrageneric classification of *Passiflora* L. (Passifloraceae). *Passiflora*, 13 (2): 34-38.

García, N. & Luebert, F. 2005. Hallazgo de *Malesherbia tocopillana* Ricardi (Malesherbiaceae) en su localidad tipo. *Chloris chilensis* 8(2). FALTAN LAS PAGINAS

Gay, C. 1846. Historia física y política de Chile. Tomo segundo p.423. Museo de Historia Natural de Santiago.

Gengler-Nowak, K. 2002. Reconstruction of the biogeographical history of Malesherbiaceae. En: K.R. Young et al. (Eds.) *Plant Evolution and Endemism in Andean South America*. *Bot. Rev.* 68(1): 171-188.

Gengler-Nowak, K. 2003. Molecular Phylogeny and Taxonomy of Malesherbiaceae. *Systematic Botany* 28: 333-344.

González *et al.*, 2005. Fire history of *Araucaria - Nothofagus* forests in Villarrica National Park, Chile *Journal of Biogeography* 32: 1187-1202.

Hartmann, H.; Kester, D. and F. Davies. 1997. *Plant Propagation: Principles and Practices*. New Jersey, USA: Prentice Hall International. 880 p.

Hartmann, H.H.; Kester, D.E. and Davies Jr., F.T. (1990) *Plant Propagation Principles and Practices*. 5th Edition, Prentice Hall, Eaglewood Cliffs, 232-233.

Hernández J.; Estades C. & Faúndez L. 2018. Biodiversidad Terrestre de la región de Arica y Parinacota. Facultad de ciencias forestales y de la conservación de la naturaleza, Universidad de Chile y Ministerio del Medio Ambiente, Santiago 415p.

Madueño, A.; García, D.; Hernández, J.; Rubio, C.; Navarrete, A.; Bojorquez, J. 2006. Germinación de semillas de frijolillo, *Rhynchosia mínima* (L) DC., luego de someterla a tratamientos de pregerminación. *Bioagro* 18 (2): 101-105.

Moreno-Martínez, M. E. 1996. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). México 393 pp.

Muschner, V.; P. Zamberlan; S. Bonatto and L. Freitas. 2012. Phylogeny, biogeography and divergence times in *Passiflora* (*Passifloraceae*). *Genet. Mol. Biol.* 35(4-1): 1036-1043.

Muñoz-Schick M. & Pinto R. 2003. Nueva especie de *Malesherbia* para la flora de Chile: *Malesherbia corallina* M. Muñoz et R. Pinto (*Malesherbiaceae*). *Bolotin del Museo Nacional de Historia Natural* 52: 45-49.

Muñoz, P.A., Arismendi, M.J., Cárdenas, S.F. et al. 2020. Diversity of culturable bacteria isolated from ancestral crops of Arica and Parinacota Region, Atacama Desert. *Antonie van Leeuwenhoek* 113: 2123–2137

ONEMI. 2012. Obtenido de oficina Nacional de emergencia del Ministerio del interior y seguridad pública: <http://www.onemi.cl/precipitaciones-estivales/>

Philippi R. 1893. Plantas nuevas chilenas. *Anales de la Universidad de Chile* 84: 978.

Koornneef, W.; L. Bentsink and H. Hilhorst. 2002. Seed dormancy and germination. *Current Opinion in Plant Biology* 5(1): 33-36.

Reiche C. 1898. *Estudios Críticos sobre la Flora de Chile*. Tomo II, p314 ff. Imprenta Cervantes, Santiago.

Ricardi, M. 1965. Estudios en *Malesherbiaceae* II. *Gayana Botánica* 12: 3-10.

Ricardi, M. 1967. Revisión taxonómica de las *Malesherbiaceae*. *Gayana Botánica* 16: 3-139.

Riedemann P, Aldunate G & S Teilleir. 2006. Flora nativa de valor ornamental: identificación y propagación, Chile Zona Norte. Productora Gráfica Andros Limitada, Chile. 404 pp.

Rodríguez, R., Marticorena, C., Alarcón, D., Baeza, C., Cavieres, L., Finot, V. L & Marticorena, A. (2018). Catálogo de las plantas vasculares de Chile. Gayana. Botánica, 75(1): 1-430.

Rojas Villegas, G.; Belmonte Schwarzbaum, E.; Aris. (7 de septiembre de 2019). VI congreso nacional de flora nativa de Chile. Obtenido de [http://www.sach.cl/doc/2020/Resumenes\\_VI\\_Congreso\\_Flora\\_Nativa\\_Chilena.pdf](http://www.sach.cl/doc/2020/Resumenes_VI_Congreso_Flora_Nativa_Chilena.pdf)

Ruiz H., Pavón J. 1794. Florae peruvianae, et chilensis. Prodomus p. 45.

Ruiz, M. A. 2009. El análisis de tetrazolio en el control de calidad de semillas. Caso de estudio: cebadilla chaqueña. EEA INTA Anguil Argentina (77): 1-19.

Schwienbacher, E.; J. Navarro-Cano; G. Neuner and B. Erschbamer. 2011. Seed dormancy in alpine species. Flora 206(10): 845-856.

Sanabria, D.; Silva-Acuña, R.; Oliveros, M.; Manrique, U. 2004. Germinación de semillas de las leguminosas arbustivas forrajeras *Cratylia argentea* y *Cassia moschata* sometidas a inmersión en ácido sulfúrico. Bioagro 16 (3): 225-230 pp.

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

Solomon, E.; Berg, K.; D. Martín, D. 2001. Biología. 5<sup>ta</sup> Edición. McGraw-Hill Interamericana, México. 1237 pp.

Schmidt, L. 2000. Guide to Handling of Tropical and Subtropical Forest Seed, Danida Forest Seed Centre, Humlebaek, (Denmark). 511pp.

