

Influencia de algunos factores en la germinación e inducción floral de *Bomarea hispida*, Baker y *Bomarea patinii*

Some factors' effect on *Bomarea hispida*, Baker and *Bomarea patinii* germination and flower induction

Mayumi Acosta B.¹, Claudia Raquel Cortés M.¹, Luis Ernesto Rodríguez² y Teresa Mosquera²

Resumen: El estudio se llevó a cabo en dos fases. En la primera, se estudió la germinación de semillas de *Bomarea*, procedentes del páramo de San Jorge y del Jardín Botánico de Bogotá; a partir de los resultados obtenidos se hicieron pruebas de escarificación y cultivo *in vitro* de embriones cuyos resultados permitieron sugerir que la latencia en las semillas se debía a embriones rudimentarios. En la segunda fase se estudió el efecto de la estratificación con diferentes temperaturas y el efecto del ácido giberélico (GA₃), sobre la ruptura de la latencia y la germinación de los dos materiales. Las semillas del material procedente de San Jorge, identificado posteriormente como *B. hispida*, presentaron mayor crecimiento de los embriones y mayor porcentaje de germinación con temperaturas de 4° C; mientras que con las semillas del material procedente del Jardín Botánico, identificado luego como *B. patinii* se obtuvo una mejor respuesta con temperaturas de 20° C. La respuesta a la aplicación de GA₃ fue diferente con respecto a cada procedencia; en *B. patinii* la germinación ocurrió aun en el tratamiento testigo (sin GA₃); el efecto del regulador se produjo sobre el total de germinación, mientras que en *B. hispida* el GA₃ tuvo un efecto positivo en la ruptura de la latencia en concentraciones de 500 y 1.000 ppm. Para el estudio de floración se evaluó el efecto de GA₃ y de ácido salicílico (AS) sobre plantas de *B. patinii* de cuatro y diez meses de edad. El GA₃ en concentraciones de 250, 500 y 1.000 ppm generaron mayor elongación de los entrenudos con respecto al testigo, y aunque no se indujo floración fue evidente el cambio en la morfología, reducción en el área foliar y alteración en el color de tallos y hojas. El AS, en concentraciones molares de 10⁻⁵, 10⁻³, 10⁻² no alteró en forma significativa ninguna de las variables de crecimiento de las plantas de *Bomarea* sp. La mayor concentración empleada del regulador causó fitotoxicidad.

Palabras clave: Estratificación, embriones, ácido giberélico, ácido salicílico.

Abstract: This study was conducted in two stages. *Bomarea* seed germination was studied using seeds from the San Jorge páramo and the Bogotá Botanical Garden during the first stage. Scarification and *in vitro* embryo culture assays were conducted from the results obtained, suggesting that dormancy was due to undeveloped embryos. The efficacy of stratifying at different temperatures and effect of adding gibberellic acid (GA₃) to interrupt seed dormancy was examined during the second stage. The two seed stocks responded differentially to temperature treatment. While páramo seeds (identified later on as being *B. hispida*) had higher germination percentage and larger embryos at 4° C, seeds from the Botanical Garden (identified later on as *B. patinii*) performed better at 20° C. Seed source also affected their GA₃ response; this growth regulator on *B. patinii* only affected overall seed germination, whereas it interrupted seed dormancy at 500 and 1,000 ppm on *B. hispida*. GA₃ and salicylic acid (SA) effect on flower induction was determined on 4- and 10-month old *B. patinii* plants. 250, 500 and 1,000 ppm concentration GA₃ resulted in longer internodes than on control plants. Such treatment did not result in flower induction, but did increase stem length, reduced leaf area and altered stem and leaf coloration. 10⁻⁵, 10⁻³ and 10⁻² M of SA did not significantly affect any of these growth variables. SA was phytotoxic at the highest concentration.

Key words: Stratification, embryo, gibberellic acid, salicylic acid.

Fecha de recepción: 26 de mayo de 2004.

Aceptado para publicación: 01 de diciembre de 2004.

1 Ingeniera Agrónoma, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

2 Profesor Asociado, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. e-mails: lerodriguezmo@unal.edu.co; tmosquerav@unal.edu.co

Introducción

EL GÉNERO *BOMAREA* ES NATIVO de América tropical, pertenece a la familia Alstroemeriaceae y se constituye en un recurso nativo con un alto potencial para el mejoramiento de especies relacionadas; sin embargo, por ser un material silvestre, la germinación y floración son muy poco conocidas así como los factores que inciden en estas etapas de desarrollo.

Gordillo *et al.* (2000), hicieron cruzamientos directos y recíprocos de *Alstroemeria* x *Bomarea caldasiana* encontrando un grado de incompatibilidad que provocó un bloqueo en la celularización del endospermo y, por tanto, aborto embrionario. Sin embargo, la presencia de algunos embriones indicó que el cruzamiento de *Alstroemeria* por *Bomarea* puede ser viable y que existe la posibilidad de regenerar plantas de origen sexual mediante técnicas *in vitro* de rescate de embriones sexuales inmaduros.

Ensayos preliminares en laboratorio, con semillas colectadas en el Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis y en el páramo San Jorge (Soacha) permitieron observar diferencias en cuanto al porcentaje y el tiempo de germinación. Mientras las primeras alcanzaron 93% de germinación en 30 días, el material de San Jorge no superó el 10% antes de 90 días. Así mismo, algunos tratamientos de escarificación con ácido sulfúrico y con ácido clorhídrico, en concentraciones de 1 mg·l⁻¹ y el cultivo *in vitro* de los embriones con diferentes concentraciones de sacarosa y GA₃, no modificaron el patrón de germinación de las semillas, lo cual permitió descartar la presencia de inhibidores a nivel de testa y endospermo y plantear un tipo de latencia a nivel embrionario.

Atwater (1980) plantea que especies ornamentales, pertenecientes a las familias *Ranunculaceae*, *Papaveraceae* y *Araliaceae*, tienen embriones rudimentarios y que el proceso de desarrollo de estos puede ser favorecido por la exposición a temperaturas de 15° C o menos, a temperaturas alternas o a tratamientos con GA₃, cuyos componentes se encuentran en concentraciones relativamente altas en semillas en desarrollo, pero usualmente disminuyen en semillas maduras dormantes (Hartman *et al.*, 1997).

Algunas semillas, particularmente de plantas silvestres, requieren luz o frío para inducir germinación (Taiz

y Zeiger, 1998). Los posibles mecanismos para romper dormancia durante la estratificación son cambios en la fluidez de la membrana con bajas temperaturas (<15° C) y la mayor actividad enzimática de proteasas y lipasas, las cuales se incrementan durante la estratificación fría; incluso, existe una lipasa que presenta una temperatura óptima de 4° C para su actividad. En general hay reducción de lípidos almacenados y un incremento en azúcares y aminoácidos de reserva durante la estratificación fría. Este incremento en solutos osmóticamente activos podría, en parte, explicar el incremento en el crecimiento potencial que se ve en los embriones después de la estratificación fría, de acuerdo con lo planteado por Hartman *et al.* (1997).

La germinación de las semillas puede requerir GA₃ para la activación del crecimiento vegetativo del embrión, para el debilitamiento de las capas que rodean el embrión y para la movilización de reservas alimenticias del endospermo. Durante la germinación las GAs promueven la producción y/o secreción de enzimas hidrolíticas, principalmente α -amilasa, envueltas en la solubilización de las reservas del endospermo. El almidón y las proteínas son desdoblados por una variedad de enzimas hidrolíticas y los azúcares, aminoácidos y otros productos son transportados para el crecimiento del embrión (Taiz y Zeiger, 1998).

De igual forma que con la germinación, la floración en las especies pertenecientes al género *Bomarea* es poco conocida; en condiciones naturales se pueden encontrar plantas florecidas con longitud del tallo que varía desde uno hasta diez metros, ubicadas en diferentes altitudes, en diferentes épocas del año.

Se han identificado algunas sustancias como estímulos florales universales, entre ellas ciertas hormonas como GAs que pueden inducir floración en algunas especies (Salisbury y Ross, 1994). En ornamentales, las GAs son usadas comúnmente para promover floración (*Gypsophila*, *Campanula*, *Limonium*, *Solydago*, *Aster*, *Lisisanthus*, *Hyperrium*, *Peony*) (Ben-Tal y Erner, 1999).

Factores autónomos de la planta y factores exógenos como las condiciones ambientales modulan la transición del meristemo vegetativo a reproductivo. En muchas especies, como alstroemeria, las temperaturas bajas promueven la floración, la cual se ve inhibida a temperaturas superiores a 25° C (www.roskam-young-plants.com).

Se ha encontrado que la exposición a períodos prolongados de bajas temperaturas juega un papel importante sobre el desarrollo de la planta, debido a un incremento en los niveles de demetilación del DNA. Finnegan *et al.* (1998) sugieren que la demetilación del DNA provoca la expresión de genes que están implicados en la promoción de la floración. En este sentido Levy y Dean (1998) sugieren que la demetilación causaría la activación de un gen que codifica la enzima hidroxilasa ácido kaurenoica, la cual cataliza una de las primeras etapas en la biosíntesis de GA. Además de las GAs, otro regulador de crecimiento que podría tener efecto sobre la inducción floral es el ácido salicílico (AS).

En un estudio hecho por Cleland y Ajami (1974), se logró identificar al AS como la sustancia responsable de la floración de *Lemna gibba* G3 luego de analizar extractos de una planta de día corto *Xanthium satrumarium* y extractos de miel de rocío producidos por el áfido *Dactynotus ambrosiae* alimentado de esta planta.

Diversas investigaciones han encontrado relación entre la floración de muchas especies pertenecientes a la familia *Lemnaceae* y la presencia de AS en el medio de cultivo. Por ejemplo, la aplicación de AS en concentraciones de 10^{-5} M indujo hasta un 60% de floración en plantas de día corto de *Lemna paucicostata*, así como en plantas de día largo de *Lemna gibba* (Khurana y Maheshwari, 1978). En las dos especies el AS causó un cambio en la curva de fotoperíodo crítico para la floración. En condiciones normales, el fotoperíodo crítico de *Lemna gibba* es de 10 horas; con $3,2 \mu\text{M}$ de AS adicionado al medio de cultivo se produjo floración en fotoperíodos de 8 a 11 horas mientras para *L. paucicostata* el fotoperíodo crítico son 14 horas; y al ser tratado con la misma concentración de AS, la floración se produce con fotoperíodos de 13 a 15 horas (Cleland y Tanaka, 1979).

Los objetivos de este trabajo fueron determinar el efecto de la aplicación de GA_3 y el efecto de la estratificación, con diferentes temperaturas, sobre la germinación de semillas de *Bomarea* sp. y evaluar el efecto del GA_3 y del AS sobre la floración de *Bomarea* sp.

Materiales y metodología

Para esta investigación se contó con invernaderos, equipos, materiales y reactivos del Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. Los inver-

naderos de la Facultad de Agronomía se encuentran a 2.556 m.s.n.m, temperatura promedio de $14,7^\circ \text{C}$, humedad relativa de 80% y brillo solar de $4,5 \text{ horas}\cdot\text{día}^{-1}$ (Vargas, 2001).

Ensayos preliminares

Pruebas de viabilidad y germinación: Se sembraron en turba semillas de *Bomarea* maduras, procedentes del Jardín Botánico de Bogotá “José Celestino Mutis” (2.600 m.s.n.m.) y de inmediaciones del Centro Experimental San Jorge, municipio de Soacha (3.000-3.500 m.s.n.m.), consideradas inicialmente de la misma especie, 70 semillas de cada procedencia. El análisis de la viabilidad de las semillas fue superior a 90%.

La germinación se inició después de la tercera semana de siembra en las semillas provenientes del Jardín Botánico y alcanzó 93% de germinación en la cuarta semana. El material de San Jorge no germinó antes de los 90 días y el porcentaje en esta fecha no fue superior a 10%.

Teniendo en cuenta los resultados del primer ensayo, se pensó en un posible bloqueo por parte de las cubiertas como la causa para el retraso en la germinación y se planteó la escarificación como alternativa para ablandar las cubiertas y facilitar la emergencia de la radícula.

Escarificación de semillas: Las semillas se sumergieron durante un minuto en soluciones de ácido sulfúrico o ácido clorhídrico en concentraciones de $1 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. La germinación no ocurrió antes de tres semanas para el material del Jardín Botánico, mientras que en el material de San Jorge no se evidenció germinación aun después de cuatro semanas. Este resultado permitió plantear que posiblemente el endospermo fuera una barrera para el crecimiento del embrión y que esta fuera la causa del retraso en la germinación.

Cultivo *in vitro* de los embriones: Utilizando un medio MS (Murashige y Skoog) enriquecido con concentraciones de 0,5 y 1 ppm de GA_3 y concentraciones de sacarosa de 30, 40 y $60 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ se procedió al rescate y siembra de los embriones. Durante cinco semanas se evaluó el crecimiento de los embriones sobre un total de cinco embriones por tratamiento. Las concentraciones de 0,5 ppm de GA_3 y $60 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ de sacarosa, aunque promovieron algún crecimiento del embrión en las semillas procedentes del Jardín Botánico, no

afectaron la germinación, la cual solo ocurrió después de la tercera semana, de igual forma que en las semillas sembradas en turba. Los embriones de las semillas procedentes de San Jorge no respondieron a ninguna de las concentraciones y aun en la quinta semana no se observó germinación.

A partir de estos resultados se descartó la presencia de inhibidores a nivel de testa y endospermo y se planteó un tipo de latencia embrionario.

Evaluación del efecto de la estratificación en la germinación de Bomarea sp.

Se evaluaron cinco tratamientos de temperaturas (Tabla 1). Las semillas fueron sembradas en turba y llevadas a cuarto frío y/o incubadora durante dos semanas, según los tratamientos. Luego se llevaron al laboratorio en condiciones de temperatura ambiente (20° C) y luz día. Con el fin de determinar el crecimiento de los embriones se llevaron a cabo mediciones del largo y ancho de los embriones, tomando una muestra de cinco semillas por semana para cada tratamiento. Así mismo, se evaluó el porcentaje de germinación durante un mes, tomando un total de 50 semillas por tratamiento.

Tabla 1. Tratamientos de estratificación aplicados a semillas de *Bomarea* sp. procedentes de San Jorge (S.J.) y del Jardín Botánico de Bogotá (J.B.). Después de la segunda semana de tratamiento, todo el material se mantuvo a temperatura ambiente (20° C) hasta la germinación.

Tratamiento	Procedencia	Temperatura (°C) semana 1	Temperatura (°C) semana 2
1	San Jorge	30	30
2	Jardín Botánico	30	30
3	San Jorge	4	4
4	Jardín Botánico	4	4
5	San Jorge	4	30
6	Jardín Botánico	4	30
7	San Jorge	30	4
8	Jardín Botánico	30	4
9	San Jorge	20 (testigo)	20
10	Jardín Botánico	30	

Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2x5, con cinco repeticiones.

Evaluación del efecto de diferentes niveles de GA₃ en la germinación de Bomarea sp.

Se evaluó el efecto de tres concentraciones de GA₃: 0, 500 y 1.000 ppm, durante 24 y 48 horas de imbibición. Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar, con arreglo factorial 3 x 2 x 2, con cinco repeticiones.

A partir de la siembra se tomaron datos semanales de crecimiento de los embriones y porcentaje de germinación durante un mes. El crecimiento de embriones se evaluó sobre una muestra de cinco semillas por semana y el porcentaje de germinación sobre el total de 50 semillas.

Ensayos de inducción floral

Se hicieron dos experimentos independientes, sobre plantas de *Bomarea* sp. procedentes del Jardín Botánico, de cuatro y diez meses de edad.

Evaluación del efecto del GA₃ en la inducción floral de Bomarea sp.

Las soluciones de GA₃, en concentraciones de 0, 250, 500 y 1.000 ppm se aplicaron sobre los brotes de cada planta mediante aspersión foliar, usando aproximadamente 10 ml·planta⁻¹. Las materas se distribuyeron en un diseño completamente al azar, con arreglo factorial 4x2 y cinco repeticiones por tratamiento. Se tomaron datos semanalmente durante dos meses: de altura de planta, número de hojas, longitud de entrenudos y número de brotes por planta. Como unidad experimental se tomaron dos brotes por planta.

Evaluación del efecto del as en la inducción floral de Bomarea sp.

Se utilizaron dosis de AS, en concentraciones molares de 10⁻⁵, 10⁻³, 10⁻² y un testigo absoluto. La aplicación se hizo en forma de aspersión foliar sobre todos los brotes de cada planta. El ensayo se desarrolló sobre un diseño completamente al azar, con arreglo factorial 4x2, con cinco repeticiones por tratamiento. Se evaluaron las mismas variables del ensayo anterior. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza y pruebas de comparación múltiple de medias por medio del programa SAS.

Resultados y discusión

En los cortes histológicos hecho sobre 20 semillas en similar estado de madurez (cosechadas de cápsulas totalmente abiertas) antes de la aplicación de los tratamientos, se observaron diferencias en el tamaño del embrión, según la procedencia del material. Las semillas del Jardín Botánico presentaron embriones más largos que los de las semillas de San Jorge, con células más organizadas, posiblemente con un mayor grado de diferenciación (Figura 1).

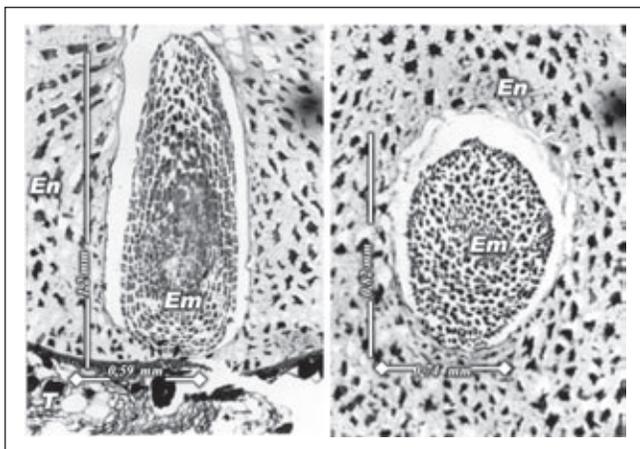


Figura 1. Cortes longitudinales de embriones aislados de semillas de *Bomarea* sp. Izquierda, semillas procedentes del Jardín Botánico; derecha, semillas procedentes de San Jorge. Em: embrión; En: endospermo; T: testa.

Efecto de la estratificación en la germinación de *Bomarea* sp.

Las diferencias morfológicas de los embriones y la diferencia en la respuesta a los tratamientos aplicados hicieron suponer que se trataba de especies diferentes, por lo cual se hizo la identificación taxonómica de estas plantas y se concluyó que la especie procedente del Jardín Botánico es *Bomarea patinii* Baker subsp. *patinii* (Alzate, 2003) y la especie procedente de San Jorge es *Bomarea hispida* Baker (Alzate, 2003; ésta puede cambiar porque aún no se ha logrado definir el verdadero nombre de la especie).

El crecimiento de los embriones de *B. hispida* fue estimulado con todos los regímenes de temperatura; hacia la cuarta semana de evaluación se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. Presentaron mayor crecimiento los embriones de las

semillas sometidas al régimen de 4° C durante dos semanas. Este mayor crecimiento corresponde también con el mayor porcentaje de germinación (Tabla 2). Se observa que en aquellas semillas que permanecieron por un tiempo más prolongado a baja temperatura, el porcentaje de germinación fue mayor. Al respecto Moreira y Nakagawa (1988) plantean que, hasta cierto límite, el efecto sobre la germinación será tanto más acentuado cuanto mayor sea el periodo en que la semilla quede expuesta a las condiciones de estratificación. En *Alstroemeria* se reporta que temperaturas menores de 5° C, durante tres semanas, inducen la germinación luego de cuatro semanas (www.coproa.com/florcortada). La mayor germinación en respuesta a la temperatura más baja sugiere la presencia de factores fisiológicos en el embrión, que los hace sensibles a la estratificación con frío.

La aplicación de un régimen cálido, si bien incrementó la longitud de los embriones, no tuvo efecto sobre la germinación; esto permite afirmar que la temperatura fría es un factor determinante en la ruptura de la latencia en *B. hispida*. En semillas de *Heracleum sphondylium* con embriones inmaduros, temperaturas de 2 a 15° C promueven el crecimiento y desarrollo de los embriones, pero la germinación de la semilla solo ocurre a los 2° C (Bradbeer, 1994).

Es evidente que las bajas temperaturas cumplen un papel importante en la ruptura de la dormancia, posiblemente porque promueven la síntesis de GA o facilitan la conversión de estas a formas activas que son requeridas para la activación enzimática y posterior movilización de nutrientes para el crecimiento y desarrollo del embrión; superación de la latencia que lleva a la germinación. El aumento de GA endógena y la disminución de ABA durante la estratificación con bajas temperaturas ha sido reportada para especies de manzana y melocotón (Hartman *et al.*, 1997).

Los resultados de este estudio indican que las semillas de *B. hispida*, tal como se ha observado en algunas variedades de *Alstroemeria*, presentan embriones morfológicamente inmaduros que requieren, según la especie, determinadas condiciones para su desarrollo antes de la germinación (King y Bridgen, 1990).

En el caso de *B. patinii* se encontró una relación directa entre la temperatura, el crecimiento de los embriones y el porcentaje de germinación. A tempera-

Tabla 2. Crecimiento de los embriones y porcentaje de germinación de semillas de *Bomarea* estratificadas con diferentes temperaturas. Tamaño de embriones en la semana 0: 1,05 mm x 0,50 mm.

Especie	Tratamiento (por dos semanas)	Largo embrión (mm)	Ancho embrión (mm)	Porcentaje de germinación			
		Semanas después de siembra					
		4	4	1	2	3	4
<i>B. hispida</i>	20° C	1,17 b	0,57 a	0,00	0,00	0,00	0,00 b
	4° C	1,80 a	0,53 a	0,00	0,00	0,00	20,00 a
	4° - 30° C	1,50 ab	0,53 a	0,00	0,00	0,00	13,33 b
	30° - 4° C	1,17 b	0,50 a	0,00	0,00	0,00	12,50 b
	30° C	1,60 ab	0,50 a	0,00	0,00	0,00	0,00 b
<i>B. patinii</i>	20° C	2,40 a	0,60 c	0,00	0,00 b	73,68 b	100,00 a
	4° C	1,67 b	0,90 b	0,00	0,00 b	21,05 c	93,75 a
	4° - 30° C	1,67 b	0,93 b	0,00	0,00 b	36,84 c	93,76 a
	30° - 4° C	1,60 b	1,37 a	0,00	0,00 b	47,37 c	93,76 a
	30° C	2,17 a	1,00 b	0,00	66,67 a	100,00 a	100,00 a
CV		15,43	20,25	-	273,86	35,80	16,42
F(Temperatura)		*	*	-	*	**	n.s.
F(Especie)		**	**	-	*	**	*
F(T X E)		*	*	-	*	**	n.s.

Medias con la misma letra, en la misma columna, no difieren significativamente según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

turas de 20 y 30° C los embriones alcanzaron mayor longitud. De igual forma, con estas temperaturas se alcanzaron mayores porcentajes de germinación en un tiempo menor que cuando se aplicó un régimen de alternancia de temperaturas, planteando que las bajas temperaturas afectan negativamente la velocidad de germinación (Tabla 2).

Los resultados obtenidos permiten concluir que estas semillas no presentan latencia. Teniendo en cuenta los reportes de Hartman *et al.* (1997), en semillas no latentes el óptimo de temperatura para la germinación estaría entre los 20 y 25° C; para el caso de *B. patinii* este óptimo estaría alrededor de los 20° C.

De acuerdo con lo reportado por Moreira y Nakagawa (1988), la temperatura a la cual ocurre la germinación tiene efecto sobre el total y la velocidad de la germinación. La temperatura influye en la germinación tanto por ejercer una acción directa sobre la velocidad de absorción de agua, cuanto por afectar también las reacciones bioquímicas que determinan todo el proceso; hasta cierto límite, cuanto mayor es la temperatura mayor será la velocidad de absorción de agua y mayor la velocidad de las reacciones bioquímicas.

Los resultados obtenidos en este ensayo coinciden con los reportados por Black (2002) en las zonas templadas, donde las semillas de *Bomarea* no parecen necesitar un disparador especial diferente a la temperatura y la humedad para conseguir la germinación. Algunas especies pueden germinar con calor, pero la mayoría lo hace cuando la temperatura llega a ser fría en el otoño y a principios de invierno. Sin embargo, si se observan los semilleros, aun cuando estas prefieren el segundo régimen, la disparidad en la germinación resulta desconcertante. Este fenómeno podría explicarse por la alta variabilidad en cuanto al grado de madurez dentro de un mismo lote de semillas, característica común en la mayoría de las especies silvestres. En este sentido es posible que las semillas de *B. hispida* presenten exigencias más específicas de temperatura para promover la germinación.

Efecto del GA_3 En la germinación de *Bomarea* sp.

El GA_3 no tuvo efecto significativo sobre el crecimiento en ancho y longitud en los embriones en semillas de *B. hispida*. La diferencia en esta variable la determina el periodo de imbibición; las semillas que permanecieron embebidas por más tiempo presentan embriones de mayor longitud (Tabla 3).

Tabla 3. Efecto de la aplicación de diferentes concentraciones de GA₃ sobre el crecimiento de los embriones y la germinación de semillas de *Bomarea*.

Especie	Tratamiento	Largo embrión (mm)		Ancho embrión (mm)		Porcentaje de germinación					
		Semanas después de tratamiento									
		4		4		2		3		4	
Tiempo imbibición (horas)	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	
<i>B. hispida</i>	Testigo	1,03 a	1,40 a	0,53 a	0,50 a	0	0	0	0	0,0 b	0,0 b
	500 ppm	1,23 a	1,40 a	0,50 a	0,47 a	0	0	0	0	6,3 b	12,5 a
	1.000 ppm	1,13 a	1,33 a	0,53 a	0,50 a	0	0	0	0	0,0 b	12,5 a
<i>B. patinii</i>	Testigo	1,40 b	2,00 a	1,00 a	0,87 a	0	0	66,7 a	66,7 a	87,5 b	81,3 b
	500 ppm	1,70 a	1,70 b	0,80 b	0,73 b	0	0	0,0 c	66,7 a	100,0 a	87,5 b
	1.000 ppm	1,67 ab	1,93 a	0,67 c	0,87 a	0	0	33,3 b	33,3 b	100,0 a	100,0 a
CV		12,83		6,46				167,70		22,11	
F (Concentración GA ₃)		n.s.		n.s.				n.s.		*	
F (Período de imbibición)		n.s.		n.s.				n.s.		n.s.	
F (Especie)		*		*				*			
F (C X E)		n.s.		n.s.				n.s.		n.s.	

Medias con la misma letra en la misma columna no difieren significativamente según la prueba de Tukey (P < 0.05).

La imbibición de las semillas tendría dos efectos importantes sobre el crecimiento de los embriones: en primer lugar, produciendo una mayor expansión celular y, además, facilitando el transporte de reservas al embrión debido a la activación de algunas enzimas por hidratación. Con respecto a la activación enzimática, se ha encontrado que algunas de las enzimas que intervienen en la solubilización de reservas del endospermo solo requieren de hidratación para ser activadas; tal es el caso de las proteasas o la β -amilasa y que la activación en algunos casos depende del periodo de imbibición; en este sentido Besnier (1979) reporta que en semillas de lechuga la acción de la fitasa comienza a la 25 horas de imbibición, mientras que las actividades de proteinasas y otras enzimas y la subsiguiente hidrólisis de proteínas y lípidos no se detecta hasta las 30 horas a partir del comienzo de la imbibición. Es posible que el mayor crecimiento en embriones de semillas de *B. hispida* durante la imbibición más prolongada esté determinado por una mayor activación enzimática.

La germinación de semillas de *B. hispida* comenzó a partir de la cuarta semana de siembra, como se puede ver en la Tabla 3, y se presentaron diferencias significativas entre tratamientos; en semillas embebidas en 500 y 1.000 ppm durante 48 horas se obtuvo el mayor porcentaje de germinación.

Aunque la mayor longitud de embriones se obtuvo en semillas embebidas durante 48 horas sin GA₃, las semillas no germinaron; es posible que el crecimiento estuviera dado por una mayor expansión celular y que para que los embriones logren un mayor grado de diferenciación celular requieran no solo la acción de aquellas enzimas que se activan por hidratación sino también de las que se activan por efecto de las GA₃; en este sentido Besnier (1979), plantea que el inicio de la actividad metabólica presupone la existencia de sustratos, enzimas y hormonas; la respiración puede efectuarse sobre sustratos iniciales liberados por simple hidratación, como son los azúcares y los cetoácidos (piruvato, etc.) liberados de los aminoácidos; pero la utilización de estos sustratos requiere la presencia de las enzimas apropiadas y de las hormonas que modulan su acción, por ejemplo las GAs.

Se obtuvo un efecto positivo en la ruptura de la latencia en las semillas por acción del GA₃, comparando el tiempo a germinación en los ensayos preliminares para *B. hispida* se logró acelerar la germinación 60 días. La reactivación del crecimiento del embrión posiblemente se debió a la activación enzimática mediada por el GA₃. Al respecto, Besnier (1979) reporta que las GAs promueven la síntesis de diversas enzimas entre las que se destacan la α -amilasa y la dextrina límite; la α y β -glu-

cosidasas, las endo-beta-glucosidasas y las endoxilasas permitiendo la movilización de hidratos de carbono para el crecimiento y desarrollo del embrión.

Si bien el GA₃ parece cumplir un papel importante en la ruptura de latencia en semillas de *B. hispida*, es posible que estas posean otros mecanismos de latencia dado que se obtuvo un porcentaje bajo de germinación, o que se requieran otros factores para romper dicha latencia, tales como temperatura fría, periodos más prolongados de imbibición o balance hormonal.

Con relación a las semillas de *B. patinii*, se encontró que el GA₃ y el período de imbibición tuvieron efecto sobre la longitud de los embriones. Las semillas embebidas durante 48 horas en 0 y 1.000 ppm de GA₃ presentaron embriones de mayor longitud; es posible que en este caso un mayor periodo de imbibición induzca mayor crecimiento del embrión por expansión celular y por otra parte se logre una mayor activación enzimática por hidratación y por efecto del GA₃ (Tabla 3).

La germinación se presentó a partir de la tercera semana de siembra, siendo mayor en el tratamiento testigo en los dos periodos de imbibición; es posible que para inducir germinación en este material no se requiera de un mecanismo diferente al de la hidratación. Semillas embebidas en 1.000 ppm de GA₃ mostraron una reducción de 50% en la germinación, mientras que a 500 ppm la diferencia estuvo marcada por el periodo de imbibición.

Si bien en la cuarta semana se obtuvo un alto porcentaje de germinación con todos los tratamientos, se

observó que en aquellos donde la velocidad de germinación fue mayor, el total de semillas germinadas se redujo. Es evidente que en *B. patinii* los óptimos de GA₃ disponible son diferentes para velocidad y total de germinación como sucede con otros factores como temperatura e imbibición; por ejemplo en semillas de remolacha la velocidad de germinación fue mayor en un nivel de disponibilidad de agua que ya comenzaba a reducir el porcentaje de germinación. En semillas de *B. patinii*, tratamientos con GA₃ reducen la velocidad de germinación pero aumentan el total de semillas germinadas.

Pruebas de floración

Efecto del GA₃ en la floración de *B. patinii*. A excepción de la longitud de entrenudos, en ninguna de las variables medidas se obtuvieron diferencias significativas en respuesta a la aplicación de GA₃. La mayor elongación se dio entre la segunda y la tercera semana después de la aplicación en las plantas de cuatro meses de edad, y entre la tercera y la cuarta semana en plantas de diez meses (Tabla 4).

Se produjo una respuesta diferente en la elongación de los entrenudos con respecto a la edad y a la concentración de GA₃ aplicado; las plantas más jóvenes presentaron entrenudos más largos y respondieron mejor a concentraciones de 1.000 ppm, mientras que en plantas de diez meses de edad se observó mayor elongación de entrenudos cuando fueron tratadas con 250 ppm de GA₃; es posible que en *Bomarea* la elongación de los entrenudos sea una señal de floración.

Tabla 4. Respuesta de plantas de *Bomarea* sp. de dos edades, tratadas con diferentes concentraciones de GA₃.

Tratamiento	Longitud de los entrenudos (cm)							
	Semanas después de tratamiento							
	1		2		3		4	
Edad (Meses)	4	10	4	10	4	10	4	10
Testigo	1,01 b	0,85 b	0,98 b	0,86 a	1,11 b	0,82 b	0,94 b	0,83 b
250 ppm GA ₃	1,06 ab	1,23 a	1,35 ab	1,13 a	1,57 ab	1,34 a	1,48 ab	1,62 a
500 ppm	1,07 ab	0,92 b	1,30 ab	0,91 a	1,54 ab	1,09 ab	1,36 ab	1,17 b
1.000 ppm	1,34 a	1,03 ab	1,43 a	1,10 a	1,79 a	1,29 ab	1,75 a	1,28 ab
CV	23,13		28,07		32,64		35,48	
F (Tratamiento)	n.s		n.s.		*		*	
F (Edad)	n.s		*		*		n.s.	
F (T x E)	n.s		n.s.		n.s.		n.s.	

Medias con la misma letra en la misma columna no difieren significativamente según la prueba de Tukey (P < 0,05).

Reportes de Thomas y Vince-Prue (1997), sugieren que en algunas plantas la iniciación floral está acompañada por una rápida extensión del tallo. Bajo condiciones normales la floración y elongación del tallo pueden no estar separadas y esta última es usada algunas veces como una medida de la respuesta a floración. En este sentido, Cline y Agatep (1970) encuentran que un gran número de especies muestran una relación obligada entre floración y elongación del tallo. En *Scrophularia marilandica*, la elongación del tallo precede la aparición del primordio floral, también en otras plantas de día largo la floración ocurre solo con la elongación simultánea del tallo, algunos casos incluyen *Matricaria phartenoides*, *Centaurea cyanus*, *Coryopsis tinctoria*, cebada, maíz y millo.

Thomas y Vince-Prue (1997) plantearon que diferentes GAs tienen efectos diferentes sobre la floración y elongación del tallo; tal es el caso de algunas plantas de día largo como *Lolium temulentum* en las que la GA_{32} promovió la floración pero tuvo un bajo efecto sobre la elongación del tallo, en contraste la GA_1 promovió una fuerte elongación del tallo pero tuvo solo un pequeño efecto sobre la floración.

Aunque no se indujo floración con ninguna de las concentraciones de GA_3 aplicadas, se evidenciaron diferencias morfológicas en las plantas tratadas, como fueron la elongación de los entrenudos, la reducción en el área foliar y la alteración en el color de tallos y hojas (Figura 2).

Observaciones en campo sobre plantas de *Bomarea* sp. que florecen en condiciones normales permitieron ver una coincidencia en el aspecto de estas y el que presen-

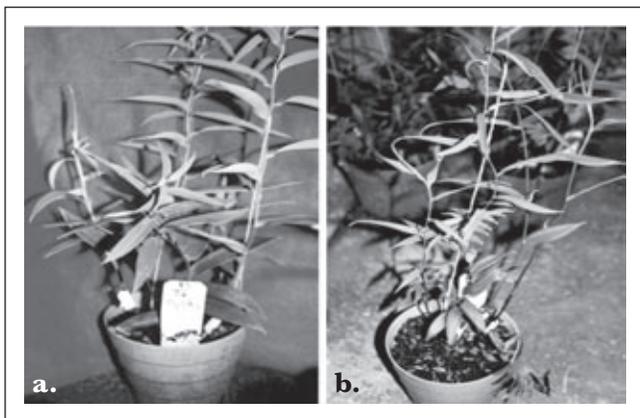


Figura 2. Cambios morfológicos en hojas y tallo en plantas de *B. patinii* tratadas con GA_3 . a. Planta testigo (sin GA_3). b. Planta tratada con GA_3 .

taron las plantas tratadas con GA_3 (Figura 3). Es posible que estos cambios sean una señal de la iniciación floral y que para que el meristemo llegue a diferenciarse requiera de condiciones ambientales específicas como fotoperíodo o bajas temperaturas.

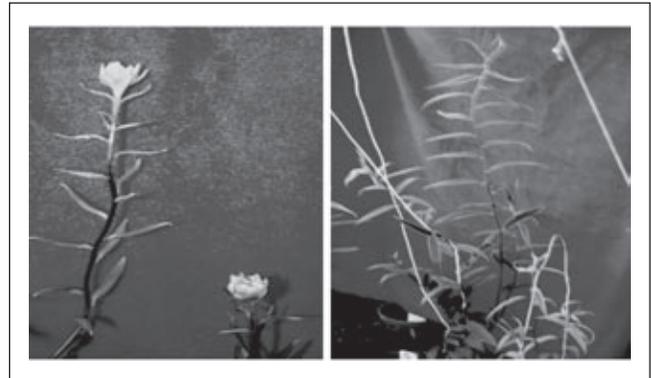


Figura 3 Apariencia de una planta de *B. patinii* en floración, sin tratamiento (izquierda) vs una planta tratada con GA_3 (derecha). Nótese la similitud en la coloración y tamaño de las hojas; la reducción del área foliar es evidente en los dos casos y la longitud de los entrenudos es también similar.

Pederson *et al.* (1996) reportan que en cultivares de *Alstroemeria Regina* y *Walter Fleming* los períodos de bajas temperaturas son un requisito para la inducción floral, y que estos requerimientos son cuantitativos; períodos de seis a ocho semanas a 5° C, así como 16 semanas a 13° C inducen floración, mientras que temperaturas superiores a los 22° C inhiben la floración. Es posible que en *Bomarea* también se requiera de períodos de baja temperatura para florecer y que la GA no induzca por sí sola la floración.

Chailakhyan (1975) señala que en *Rudbeckia* la GA y el fotoperíodo causan respuestas diferentes en la actividad mitótica, mientras la GA incrementa dicha actividad en la zona medular del ápice el día largo estimula la actividad en la zona central. Estos resultados llevan a la conclusión de que el sitio de acción de la GA y el estímulo floral en el brote apical son diferentes, aunque ambos pueden ser requeridos para la inducción floral.

En algunas especies tratadas con GA la floración solo sucede bajo condiciones ambientales específicas; tal es el caso de *Bryophyllum daigremontianum*, una planta de día neutro, en la cual la aplicación de GA_3 en plantas juveniles puede promover la floración solo bajo días cortos.

La inducción floral es un proceso en el cual intervienen numerosos factores intrínsecos y ambientales difíciles de controlar en forma simultánea, máxime cuando se tienen especies de tan alta diversidad como las *Bomareas*, cuya fenología no ha sido estudiada. Si bien el GA no causó efecto directo sobre la floración, no se descarta la posibilidad de que sea un componente importante del proceso de transición floral. Como se ha demostrado en otras especies, el GA₃ resulta eficiente solo en combinación con tratamientos de vernalización o fotoperíodos largos.

Efecto del AS en la inducción floral de *B. patinii*. La aplicación de ácido salicílico no alteró en forma significativa ninguna de las variables de crecimiento de las plantas de *B. patinii*. Aunque algunos ensayos han comprobado el efecto de la aplicación de AS sobre la inducción floral de diferentes especies, como naranja (*Citrus sinensis* Osbeck), Navelina™, el cual responde positivamente a la aplicación de 61,80 g·l⁻¹ de AS (Almaguer *et al.*, 1997).

Las mayores concentraciones del regulador de crecimiento causaron toxicidad de las plantas, por lo cual se hizo necesario eliminarlas del ensayo. Este hecho corrobora que el AS, según López *et al.* (1998), resulta tóxico para algunas plantas aplicado en concentraciones de 10⁻² M. En concentraciones adecuadas, el ácido salicílico es agente señalizador y promotor de resistencia biótica y abiótica en las plantas (Benavides, 2001).

Es posible que la respuesta a la aplicación de ácido salicílico dependa del fotoperíodo como factor acompañante del estímulo floral; si bien, son desconocidos los factores de inducción floral en esta especie, no se puede descartar que el fotoperíodo sea un factor determinante, en cuyo caso se recomienda aplicar tratamientos de AS bajo diferentes regímenes de fotoperíodo.

Aunque varios investigadores han tratado de explicar el mecanismo de acción del AS para inducir floración aún no se ha llegado a determinar si ejerce un efecto directo como regulador de crecimiento o si cumple un rol secundario como promotor de la síntesis de moléculas indispensables para la inducción floral. En los sistemas animales, el AS es conocido por quelatar iones; para las plantas se ha sugerido un modo de acción similar (Khurana y Maheshwari, 1978).

El AS provoca cambios en el fotoperíodo crítico de especies de *Lemna*, tanto de día corto como de día largo; este hecho sugiere una influencia del AS en el mecanismo de cronometraje de horas luz. Existen reportes de sustancias químicas que causan cambios en la longitud del día en algunas especies; en plantas de día corto de *Xanthium strumarium* el cobalto causa un cambio de aproximadamente dos horas en el fotoperíodo crítico, y en *Lemna paucicostata* algunos aminoácidos como el ácido aspártico y la glicina promueven la floración y cambian incrementando el fotoperíodo crítico; estos resultados son similares al efecto del AS en *Lemna paucicostata*. El AS representa el primer reporte de una sustancia química que causa cambios en el fotoperíodo crítico tanto de especies de día corto como de día largo.

Nanda *et al.* (1996), reportaron un efecto sinérgico de los fenoles y el GA₃ en *Impatiens balsamin*; dicho efecto es evidente no solo en la iniciación de las yemas florales sino también en el aumento en el número de yemas que se producen en plantas tratadas con 100 mg·l⁻¹ de GA₃ más 1 mg·l⁻¹ de AS. Aunque se desconoce el mecanismo mediante el cual interactúan estas sustancias para inducir la floración, resultaría interesante evaluar el efecto conjunto de AS y GA₃ en especies de *Bomarea*.

Es posible que otros fenoles actúen como promotores de la floración. En este caso sería conveniente evaluar el efecto de diferentes compuestos fenólicos, como ácido acetil salicílico, naftol, ácido benzoico, entre otros, como inductores de floración.

Los resultados obtenidos hasta el momento se constituyen en un primer paso para el conocimiento de la fisiología de *Bomarea*, que facilitará en un futuro su utilización para programas de mejoramiento de especies relacionadas.

Se recomienda evaluar temperaturas cercanas a los 4° C, en combinación con tratamientos de GA para inducir germinación en *B. hispida*.

Para la inducción floral de *B. patinii* se recomienda evaluar el efecto de la aplicación de GA₃ y otras formas activas de GA bajo condiciones ambientales diferentes.

Agradecimientos

Al profesor Enrique Torres Torres, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Bibliografía

- Almaguer, V. G.; A. J. Rodríguez; R. A. Becerril y S. A. Larqué. 1997.** Promoción de la floración fuera de estación mediante estrés físico o químico aplicados a naranjo en invernadero. *Agrociencia* 31(1), 51-58.
- Alzate, F. 2003.** Comunicación personal.
- Atwater, B. R. 1980.** Germination, dormancy and morphology of the seeds of herbaceous ornamental plants. *Seed Science and Technology* 8, 523-73.
- Benavides, M. A. 2001.** El ácido salicílico es agente señalizador y promotor de resistencia biótica y abiótica en las plantas. Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. México.
- Ben-Tal, Y. y Y. Erner. 1999.** Flowering control by artificial gibberellins. *Acta Horticulturae* 482, 21-24.
- Besnier, R. F. 1979.** Semillas, biología y tecnología. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
- Black, I. 2002.** Growing Bomareas, some introductory notes. Alton, Hampshire, Inglaterra. <http://easyweb.easynet.co.uk/~ianblack/>. <http://www.bulbsociety.org/html>
- Bradbeer, J. W. 1994.** Seed dormancy and germination. Blackie Academic and Professional, Londres. 146 p.
- Cleland, C. F. y A. Ajami. 1974.** Identification of the flower inducing factor isolated from aphid honeydew as being salicylic acid. *Plant Physiology* 54, 904-906.
- Cleland, C. F. y O. Tanaka. 1979.** Effect of daylength on the ability of salicylic acid to induce flowering in the long day plant *Lemna gibba* G3 and the short day plant *Lemna paucicostata* 6746. *Plant Physiology* 64, 421-424.
- Cline, M. G. y A. O. Agatep. 1970.** Control of stem elongation and flowering in *Scrophularia marilandica*. *Physiologia Plantarum* 23, 993-1003.
- Chailakyan, M. 1975.** Substances of plant flowering. *Biol. Plant* 17, 1-11.
- Finnegan, E.; R. Genger; W. Peacock y E. Dennies. 1998.** DNA methylation in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49, 223-47.
- Gordillo, A.; L. E. Rodríguez y T. Mosquera. 2000.** Hibridación y cultivo de óvulos de *Alstroemeria* sp. x *Bomarea caldasiana*, como herramienta para el mejoramiento genético. Trabajo de grado. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Hartman, H. T.; D. E. Kester; F. T. Jr. Davies y R. L. Geneve. 1997.** Plant propagation. Principles and practices. Sixth edition. Ed. Prentice Hall, New Jersey.
- Khurana, J. P. y S. C. Maheshwari. 1978.** Induction of flowering in *Lemna paucicostata* by salicylic acid. *Plant Science Letters* 12, 127-131.
- King, J. J. y M. P. Bridgen. 1990.** Environmental and genotypic regulation of *Alstroemeria* seed germination. *Hort Science* 25(12), 1607-1609.
- Levy, Y. y C. Dean. 1998.** The transition to flowering. *The Plant Cell* 10, 1973-1989.
- López, R.; V. Camacho y M. A. Gutiérrez. 1998.** Aplicación de ácido salicílico para incrementar el rendimiento agronómico en tres variedades de trigo. *Terra (México)* 16(1), 43-48.
- Moreira, C. N. y J. Nakagawa. 1988.** Semillas. Ciencia, tecnología y producción. Ed. Agropecuaria Hemisferio del sur, Montevideo.
- Nanda, K. K.; S. Kumar y V. Sood. 1996.** Effect of gibberelic acid and some phenols on flowering of *Impatiens balsamina*, a quantitative short day plant. *Physiologia Plantarum* 38, 53-56.
- Pedersen, C.; C. W. Hansen; K. Brandt y K. Kristiansen. 1996.** *Alstroemeria* plantlets can be induced to flowering by cold treatment during *in vitro* culture. *Scientia Horticulturae*. pp. 217-228.
- Salisbury, F. y C. Ross. 1994.** Fisiología vegetal. Grupo Editorial Iberoamericano, México. 759 p.

Taiz, L. y E. Zeiger. 1998. Plant Physiology. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts. 792 p.

Thomas, B. y D. Vince-Prue. 1997. Photoperiodism in plants. Academia Press. California. 428 p.

Vargas, A. C. 2001. Estudio de las necesidades de riego del cultivo de cebollín (*Allium schoenoprasum*) bajo invernade-

ro en la Sabana de Bogotá. Trabajo de grado. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

<http://www.coproa.com/florcortada>. *Alstroemeria*.

<http://www.roskam-youngplants.com>. Roskam Young Plants Pty Ltd. *Alstroemeria* cultivation guide. Clarinda, Victoria, Australia.