

Tratamiento pregerminativo de la semilla de *liwi-liwi* y *pillaya* (*Atriplex* spp.) con fines de multiplicación masiva

Mariel Bonifacio; Alejandro Bonifacio

Fundación PROINPA (Fundación para la Promoción e Investigación de Productos Andinos)

E-mail de contacto: mariel.b.c.f.11@gmail.com

Resumen. Los nombres nativos de *liwi-liwi* y *pillaya* se refieren a las plantas del género *Atriplex*, de tallo herbáceo y leñoso, respectivamente. Estas especies crecen en suelos salinos de clima árido y son preferidas por animales domésticos (llamas y ovejas) y silvestres (vicuña, liebre) como especies forrajeras de ramoneo. La reproducción del *Atriplex* es mediante semilla sexual, pero, la dormancia de la semilla limita su germinación y multiplicación. Por ello, se ha propuesto investigar los tratamientos pregerminativos para fines de multiplicación masiva. Para este propósito se colectó frutos del *liwi-liwi* (*Atriplex asplundii*, *A. myriophylla* y *A. nitrophyloides*) y *pillaya* (*Atriplex retusa*) y se sometió a dos procesos de tratamiento pre germinativo (abrasión de la testa y fractura de la testa para extraer la semilla). La semilla extraída de las brácteas fue sometida a una prueba de germinación. Los frutos escarificados no germinaron en 15 días con excepción de *A. myriophylla* y *A. asplundi* que no superó el 6% de germinación. La semilla extraída de las brácteas es similar a la semilla de quinua, cuyo diámetro varía entre 1.1 a 1.8 mm, de colores café y negro, además contiene saponina. El porcentaje de germinación (a 10 días de prueba) presenta diferencias estadísticas significativas, con 94% en *Atriplex retusa* y 86.7% en *A. myriophylla*; mientras que en *Atriplex asplundii* y *A. nitrophyloides*, la germinación fue de 18% y 17.3%, respectivamente. En la segunda lectura, a 13 días de prueba, el porcentaje de germinación alcanzó a 95.5% y 98.25% en *A. retusa* y *A. myriophylla*, respectivamente, mientras que en *A. asplundii* y *A. nitrophyloides*, apenas se incrementó a 23.5% y 20.25%. En conclusión, las especies herbáceas y arbustivas del género *Atriplex* presentan dormancia de semilla debido a la dureza de las brácteas y del epispermo. Cuando se remueve la semilla de la bráctea, germina con altos porcentajes, lo cual conduce a desarrollar tecnología de multiplicación masiva con fines de producción de forraje en suelos afectados por salinidad y sequía.

Palabras clave: Características de semilla; Dormancia; Germinación

Introducción

Atriplex es el género más grande de la familia *Chenopodiaceae* que incluye aproximadamente 300 especies distribuidas en zonas ecológicas de estepa, desierto y costa, con plantas herbáceas, sub arbustos y arbustos de hasta 3 m, de ciclo de vida perenne y anual; la flora sudame-

ricana incluye 55 especies, de las cuales 45 son nativas y 10 especies son naturalizadas (Rosas 1989; Kadereit *et al.* 2010; Brignone *et al.* 2016).

Las hojas son pubescentes con pelos vesiculosos, de aspecto escamoso o más denso formando una cubierta opaca blanquecina (Rosas 1989). El número básico

de cromosomas es $x = 9$, siendo la mayoría de las especies diploides $2x = 18$, unas pocas son tetraploides $4x = 36$, inclusive hay hexaploides $2x = 54$ y octaploides $8x = 72$ cromosomas (Rosas 1989).

En los Andes, a altitudes mayores a 3500 msnm y en ambientes áridos, se encuentran las especies *Atriplex miriophylla* y *A. oreophylla* (Rosas 1989). Según estudios de filogenia del género *Atriplex*, en Sud América predominan los de tipo arbustivo y sub arbustivo (*Atriplex atacamensis*, *A. cordubensis*, *A. crenatifolia*, *A. retusa*, *A. spegazzinii* y *A. undulata*) que pueden alcanzar hasta 2.5 m de altura de planta; los de tipo herbáceo son *Atriplex braunii*, *A. nitrophiloides* (crecen al Sur de Bolivia y Norte de Argentina) y *A. oreophila* en los Altos Andes de Argentina y Chile (Brignone *et al.* 2019).

Entre los arbustos del género *Atriplex*, varios nombres científicos asignados a las especies resultaron ser sinónimos, entre ellos *A. retusa*, *A. deserticola*, *A. podocarpa* y *A. trasandina* se refieren a la misma especie, pero considerando el año en que fue publicado el nombre por primera vez, *Atriplex retusa* es el nombre correcto para la planta conocida como *pillaya* por los productores del Altiplano Sur, los otros nombres pasan a ser sinónimos (Bohnert *et al.* 2018).

Las especies de *Atriplex* crecen preferentemente en suelos salinos debido a su tolerancia a la salinidad, además, varias especies de este género colonizan suelos áridos por su resistencia a sequía (Kadereit *et al.* 2010).

Con respecto a la reproducción, la mayoría de las especies son unisexuales (dioicas), la flor femenina no tiene perigonio y en su lugar posee dos bractéolas que

encierran el ovario; al formar el fruto, las bractéolas se unen fuertemente, medianamente o pueden ser libres dependiendo de la especie y las flores masculinas poseen perianto o sépalos (Kadereit *et al.*, 2010).

Según Rosas (1989), las plantas de *Atriplex* presentan variación en el tipo de flor que poseen, son monoicas hasta dioicas, con flores solitarias o en glomérulos, dispuestas en la axila foliar y también en la panícula, a veces con flores pistiladas y estaminadas mezcladas en el mismo glomérulo, pero usualmente las flores estaminadas confinadas a las axilas superiores o a la inflorescencia terminal. La flor masculina esta desprovista de bractéolas y tiene 3 a 5 sépalos y 3 a 5 estambres con rudimento del ovario pequeño cónico o ausente. La flor femenina está protegida por dos bractéolas acrescentes generalmente unidas al menos por la base, estambres rudimentarios ausentes, estigmas 2 filiformes o suavemente engrosados. El fruto incluido entre las brácteas variadamente dentada, endurecida o a veces esponjosa. Semilla erecta o invertida raramente horizontal embrión anular, rodeando al perispermo farinoso, radícula de posición inferior, lateral o superior.

Para evaluar la germinación de la semilla de *Atriplex* (*A. glauca*, *A. halimus*, *A. semibaccata*) Robles *et al.* (2010) separaron manualmente la semilla de sus brácteas y esterilizaron con hipoclorito de sodio (3%) y peróxido de hidrógeno (7%) durante 10 y 15 minutos, luego las enjuagaron 3 veces con agua destilada. Las semillas fueron puestas a germinar sobre papel filtro en placas de Petri y sumergidas en 5 ml de solución salina (NaCl), cuya concentración (*en milimol: mM*) varió según los siguientes tratamientos: T₁ (0 mM, control, agua destilada), T₂

(100 mM), T₃ (200 mM), T₄ (400 mM) y T₅ (800 mM).

Según Martínez Z. y Martínez L. (2018), el *liwi-liwi* (*Atriplex cristata*) es una especie perenne con hábito de crecimiento arrosetado que coloniza suelos salinos. Para fines de investigación, la semilla se colecta entre los meses de abril a junio y la siembra entre los meses de octubre y noviembre.

La bractéola fructífera es variada en el género *Atriplex*, y su estructura es un carácter básico para la diferenciación de especies. Los caracteres más constantes son la forma de la bractéola madura, el tipo de margen, la soldadura y la textura que presentan. La ornamentación del dorso, tubérculo y crestas son muy variables incluso dentro un mismo individuo, por tanto, no tienen mucha utilidad para la diferenciación de especies. Algunas bractéolas están unidas hasta el tercio inferior, otras hasta la mitad y otras hasta el extremo apical. *A. myriophylla* y *A. oreophylla* presentan bractéolas muy pequeñas y duras unidas hasta la mitad y difícil de cortar, unidas hasta la mitad y cerradas hasta el extremo apical.

Las especies naturalmente tolerantes a la sal tales como *Salicornia bigelovii*, *Atriplex* ssp., *Suaeda foliosa* entre otras, están siendo promovidas en agricultura para proporcionar forraje, sustancias aromáticas u otros servicios eco sistémicos (Qadir, et al., 2008; Arora et al., 2013; Panta et al., 2014).

Las plantas halófitas son aquellas que son capaces de sobrevivir y completar su ciclo de vida en ambientes altamente salinos de al menos 200-500 mM de solución salina (Mann et al. 2023).

Por otra parte, la degradación de suelos es un factor preocupante en el altiplano de Bolivia, puesto que grandes extensiones -otrora productoras de alimentos o forrajes-, se convierten en escasamente productivas o en algunos casos han sido abandonadas por improductivas. Obviamente, en suelos degradados no se puede producir cultivos agrícolas, solamente algunas especies del grupo de las halófitas pueden prosperar reportando producción de material forrajero para los animales adaptados a zonas áridas. Por tanto, es posible considerar a las especies halófitas como recursos vegetales valiosos en suelos degradados (por salinidad y sequía).

El cultivo de halófitas es una tendencia actual, acuñándose nombres y estableciendo programas como la agricultura de halófitas, agricultura biosalina entre otras, puesto que en zonas áridas solamente se cuenta con suelos salinos afectados por sequía, donde el agua fresca es escasa (Panta et al. 2014, Ventura et al. 2015). Las plantas halófitas son potencialmente nuevos cultivos en un contexto de cambio climático y degradación del suelo. Sin embargo, el éxito de utilizar plantas halófitas y diseñar estrategias para su aprovechamiento, está muy estrechamente relacionado con la disponibilidad de semilla y la germinación de la misma.

En un contexto de aridez y desertización del suelo en el altiplano, observada en las dos últimas décadas, conduce a plantear el uso de recursos vegetales de plantas halófitas y xerofitas por su adaptación y opciones de aprovechamiento con diversos propósitos (forraje, medicina, remediación del suelo), por lo que se ha propuesto abordar los aspectos reproductivos de cuatro especies halófitas del género *Atriplex*, con los siguientes objetivos:

- Describir las características morfológicas de la semilla de *Atriplex* ssp.
- Evaluar la germinación de la semilla de las especies.
- Proponer opciones de establecimiento de praderas en sistemas pecuarios del altiplano.

Materiales y métodos

Para conocer y describir las características de la semilla de especies de *Atriplex*, entre los meses de mayo y junio se han realizado expediciones de recolección de semilla. Como paso previo a la recolección, se ha identificada plantas madre que han formado semilla, diferenciando las plantas monoicas o dioicas, para luego proceder a la colecta de semilla. En las plantas monoicas la identificación de la especie coincide con la identificación de la planta madre de la cual se recolectó la semilla. En caso de plantas dioicas, después de reconocer las especies, se ha identificado correctamente la planta hembra mediante la observación de la semilla claramente bracteada y la presencia de algunas flores femeninas bracteadas.

La recolección de semilla se realizó sobre la base de 8 a 12 plantas, es decir, con la semilla recolectada se conformó una muestra masal. Las localidades de donde se ha recolectado semilla son Ayamaya (Aroma), Sigualca (L. Cabrera) y Colchani (Uyuni). Las muestras recolectadas fueron transportadas al Centro de Investigación *Kiphakiphani* donde se realizó la limpieza de semilla sin realizar ninguna acción similar a la escarificación.

La semilla pura, fue sometida al tratamiento pregerminativo que consistió en escarificación con arena de duna haciendo la misma presión y por el mismo tiempo para las cuatro muestras de semi-

lla. La semilla escarificada fue puesta a germinar en cámara climática por un periodo de 15 días inicialmente.

Ante la escasa o nula germinación y previamente haber constatado la dureza de brácteas unidad fuerte o ligeramente por la base, se optó por la remoción de semillas del interior de los frutos bracteados. La semilla removida fue sometida a prueba de germinación tomando dos periodos de lectura a 7 y 13 días. complementariamente, se ha procedido al análisis de saponina en la semilla de *Atriplex* empleando el método de la espuma.

Los datos de germinación registrados fueron sometidos al análisis de varianza bajo el modelo lineal aditivo para el diseño experimental Completamente al Azar con 4 repeticiones. Cuando las diferencias en porcentaje de germinación fueron significativamente diferentes a nivel estadístico, se procedió a realizar la prueba de comparación múltiple Duncan (0.05).

Resultados y discusión

La semilla de las especies estudiadas presenta variación morfológica, anatómica y fisiológica (Cuadro 1).

Los frutos de *A. retusa* y *A. nitrophylloides* tienen las brácteas fuertemente unidas hasta el ápice, lo que le confiere dormancia a la semilla. Las otras especies *A. asplundii* y *A. miriophylla* tienen las brácteas unidas hasta 2/3 de la base, deduciéndose que la dormancia de semilla está dada por la dureza de brácteas, la dureza del epispermo o la interacción de ambos. La dormancia de semilla es una estrategia para recuperarse del shock por salinidad que favorece a las oportunidades de sobrevivencia de la semilla (Lombardi *et al.*, 2021).

Cuadro 1. Características de la semilla de cuatro especies de *Atriplex* ssp.

Especie	Unión de brácteas	Posición radícula	Factor de dormancia	Presencia saponina
<i>A. retusa</i>	Completa hasta ápice	Vertical	Dureza de brácteas	+
<i>A. nitrophyloides</i>	Parcial hasta el ápice	Vertical	Dureza de brácteas y episperma	+
<i>A. miriophylla</i>	Parcial hasta 2/3 de la base	Vertical	Dureza de brácteas	+
<i>A. asplundii</i>	Parcial hasta 2/3 de la base	Vertical	Dureza de brácteas y episperma	+

En todas las especies estudiadas, la radícula está orientada hacia el inferior y en forma vertical hacia la base la bractéola. La prueba de saponina dio positivo en las cuatro especies, o sea que la semilla de las cuatro especies contienen saponina que le confiere un sabor amargo.

La prueba de germinación de semilla escarificada y sin remover la bráctea fue nula en *A. retusa* y *A. nitrophyloides*, lo cual se atribuye a la fuerte unión de las brácteas; mientras que *A. miriophylla* y *A. asplundii*, alcanzaron un bajo porcentaje de germinación (6%) en 15 días de prueba. La germinación iniciada en las dos últimas especies, se atribuye a la unión parcial de las bractéolas que permitió el ingreso agua y la imbibición de la semilla. Observaciones en campo corroboran esta condición de germinación, puesto que la semilla contenida en brácteas aún no solidificadas, germina en la base de planta madre cuando las condiciones de humedad son favorables, al menos por unas dos semanas.

En una investigación sobre el potencial de germinación de *Atriplex nummularia* en condiciones de laboratorio, en un periodo de 18 días, la germinación de la semilla contenida en las bractéolas fue inhibida (Campwell y Mathewson 1992).

La extracción de semilla del interior de brácteas no ofrece mayor dificultad cuando las brácteas no están fuertemente unidas (*A. miriophylla* y *A. asplundii*), sin embargo, en aquellas que tienen las brácteas unidas hasta el ápice, la extracción de semilla resulta dificultoso. La forma de la semilla es lenticular (Rosas 1989). El tamaño de semilla varía entre 1.2 a 1.8 mm de diámetro y el color varía en tonalidad de café (*A. retusa*, *A. asplundii* y *A. miriophylla*) y negro (*A. nitrophyloides*).

El análisis de varianza para para porcentaje de germinación de semilla sin brácteas, evaluada a 7 y 13 días de prueba, mostró diferencias estadísticas altamente significativas para las especies con coeficientes de variación de 16.7% y 4.2%, respectivamente.

El Cuadro 2 muestra que a 7 días del ensayo de semillas, la prueba de Duncan conforma tres grupos de medias similares, siendo *A. retusa* la que registra el más alto porcentaje de germinación (94%), le sigue *A. miriophylla* con 84% de germinación y es diferente a *A. retusa*. La semilla de las especies *A. asplundii* y *A. nitrophyloides* poseen medias similares y reportan valores muy bajos de germinación (18% y 17.25%).

Cuadro 2. Comparación de medias (Duncan 0.05) para porcentaje de germinación a 7 y 13 días de prueba

Especies	A 7 días de prueba		A 13 días de prueba	
	Germinación	Duncan	Germinación	Duncan
<i>A. retusa</i>	94.00	A	98.25	A
<i>A. miriophylla</i>	84.00	B	95.25	A
<i>A. asplundii</i>	18.00	C	23.50	B
<i>A. nitrophyloides</i>	17.25	C	20.25	B

A 7 días del ensayo de semillas, la prueba de Duncan conforma tres grupos de medias similares, siendo *A. retusa* la que registra el más alto porcentaje de germinación (94%), le sigue *A. miriophylla* con 84% de germinación y es diferente a *A. retusa*. La semilla de las especies *A. asplundii* y *A. nitrophyloides* poseen medias similares y reportan valores muy bajos de germinación (18% y 17.25%).

Para la germinación a los 13 días, la prueba Duncan ha conformado dos grupos de medias similares. *A. retusa* y *A. miriophylla* son las de mayor porcentaje de germinación (98.25% y 95.25%). Las especies *A. asplundii* y *A. nitrophyloides* tienen porcentajes de germinación muy bajos y similares entre sí (23.50% y 20.25%).

Robles *et al.* (2010) han probado la influencia de las soluciones salinas (00 mM, 100 mM, 200 mM, 400 mM y 800 mM) sobre el porcentaje de germinación en tres especies de *Atriplex*. El porcentaje de germinación para el testigo fue de $92 \pm 2.8\%$ en *A. glauca*, $93 \pm 1.0\%$ en *A. halimus* y $95 \pm 2.5\%$ en *A. semibaccata*.

La germinación en soluciones salinas se vio reducida conforme se aumentó la concentración de las soluciones salinas. En una prueba de germinación empleando semilla parcialmente quebrada las

brácteas, han alcanzado la máxima germinación de $50.7 \pm 5.2\%$, en cambio la semilla totalmente extraída de las brácteas, alcanzó la germinación de $75.3 \pm 2.7\%$ (Campwell y Matthewson 1992).

De los resultados presentados en el Cuadro 2 se deduce que la semilla removida de las brácteas de *Atriplex retusa* y *A. miriophylla* geminan con facilidad en un periodo de 7 días y aumenta a los 13 días, en cambio, *A. asplundii* y *A. nitrophyloides* tienen germinación lenta, probablemente por la dureza del epispermo como otro mecanismo de dormancia, en adición a la dureza de la bráctea, lo cual conduce a sugerir la aplicación de algún método de tratamiento pre germinativo, una vez extraída la semilla del interior de la bráctea.

Para fines prácticos de multiplicación masiva, es necesario considerar la variación en las características de la semilla que presentan las especies. En *Atriplex retusa* y *A. miriophylla*, el tratamiento para hacer germinar la semilla consiste en remover la semilla contenida al interior de las brácteas unidas, con lo cual se logra altos porcentajes de germinación.

En *A. asplundii* y *A. nitrophyloires*, la semilla debe ser removida de las brácteas y además sometida a otra etapa de escarificación mecánica o química.

La semilla tratada apropiadamente, se siembra en bandejas alveoladas conteniendo sustrato de jardinería y al cabo de 4 a 5 meses se tiene plantines disponibles para trasplante en campo.

El trasplante de plantines contenidos en las bandejas alveoladas, debe coincidir con la época de lluvias para facilitar el

prendimiento. La operación de trasplante se realiza empleando plantadoras manuales con diámetro de 5 cm en el tubo de caída. Las parcelas recientemente establecidas con especies de *Atriplex*, durante el primer año, deben ser cercadas para protegerlas de los herbívoros.



Atriplex retusa



Atriplex asplundii



Atriplex miriophylla

Multiplicación dirigida de *Atriplex* ssp.

Conclusiones

- *Atriplex retusa*, *A. miriophylla*, *A. asplundii* y *A. nitrophyloides* presentan semilla bracteada, con bractéolas unidas desde la base hasta el ápice y parcialmente unidas hasta 2/3 de la base de las bractéolas y la radícula del embrión es vertical orientada a la base o inferior de la bráctea.
- La germinación de la semilla contenida en la bráctea y escarificada es nula en *A. retusa* y *A. asplundii*, mientras que en *A. miriophylla* y *A. nitrophyloides*, la germinación apenas alcanza al 6%, lo cual se atribuye a la dureza de la bráctea como mecanismo de dormancia.
- La semilla removida de las brácteas, germina alcanzando valores máximos de 98.25% y 95,5% en *A. retusa* y *A. miriophylla*, respectivamente, sin embargo en *A. asplundii* y *A. nitrophyloides* la geminación es baja (20.25% a 23.5%) deduciéndose que la dureza del epispermo actúa como otro mecanismo de dormancia.
- Para el manejo dirigido de especies en praderas destinadas a la producción de forraje, en zonas áridas y salinas, se sugiere el tratamiento diferenciado de la semilla. En caso de *A. retusa* y *A. miriophylla* la remoción de la semilla del interior de las brácteas es suficiente para hacer germinar la semilla y en el caso de *A. asplundii* y *A. nitrophyloides* además de la remoción de semilla se sugiere aplicar algún método

de escarificación de ésta para mejorar el porcentaje de germinación.

- Para el establecimiento de praderas con especies halófitas, la semilla previamente tratada, debe ser sembrada en bandejas alveoladas con una anticipación de 4 a 5 meses a la época de trasplante en campo. El trasplante se debe realizar en la época de lluvias empleando plantadoras manuales adaptadas para este fin.

Referencias citadas

- Arora S., Bhuvu C., Solanki R., Rao G. 2013. Halophytes for bio-saline agro-forestry and phyto-remediation of coastal saline lands. *Journal of Soil and Water Conservation*. 12(3): 252-259.
- Bohnert T., Luebert F., Weigend M. 2018. *Atriplex retusa*, the correct name for *A. deserticola* (Chenopo-diaceae; Amaranthaceae sensu APG). *Phytotaxa* 373 (1): 095–098.
- Brignone N., Denham S., Pozner R. 2016. Synopsis of the genus *Atriplex* (Amaranthaceae, Chenopodioideae) for South America; *Australian Systematic Botany*. 29(4-5): 324-357.
- Brignone N., Pozner R., Denham S. 2019. Origin and evolution of *Atriplex* (Amaranthaceae s.l.) in the Americas: Unexpected insights from South American species. *Taxon* 00(00):1-16.
- Campbell E., Matthewson W. 1992. Optimizing germination in *Atriplex nummularia* (Lind.) for commercial cultivation. *South African Journal of Botany*. 58(6):478-481.
- Kadereit G., Mavrodiev E., Zacharias E., Sukhorukov A. 2010. Molecular phylogeny of Atripliceae (Chenopodioideae, Chenopodiaceae): implications for systematics, biogeography, flower and fruit evolution, and the origin of C4 photosynthesis. *American Journal of Botany*. 97: 1664–1687.
- Mann A., Lata Ch., Kumar N., Kumar A., Kumar A., Sheoran P. 2023. Halophytes as new model plant species for salt tolerance strategies. *Front. Plant Sci.*, Volume 14: 1-18.
- Martínez Z., Martínez L. 2018. Semillas nativas y adaptadas: Producción de semilla y forrajes de pastos nativos adaptados mediante la aplicación de tecnologías locales y modernas en el altiplano Central de departamento de La Paz. Proyecto de Investigación Aplicada para la Adaptación al Cambio Climático (PIA.ACC.UMSA.40), Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Andrés. La Paz, Bolivia. 29 p.
- Lombardi T., Bedini S. 2021. Seed germination strategies of mediterranean halophytes under saline condition. In: Grigore M. (ed.). *Handbook of Halophytes*. Springer. p. 1685-1703.
- Panta S., Flowers T., Lanea L., Doylea R., Haros G., Shabala S. 2014. Halophyte agriculture: Success stories. *Environmental and Experimental Botany*. 107: 71-83.
- Qadir M., Tubeileh A., Akhtar J., Larbi A., Minhas P., Khan M. 2008. Productivity enhancement of salt-affected environments through crop diversification. *Land Degradation & Development*. 19: 429 - 453.
- Robles A., Cardozo J., Ramos E. 2010. Influencia de la salinidad en la germinación de especies del género *Atriplex*. **En:** Características generales y uso en programas de desarrollo de tierras áridas y semiáridas. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Fundación Ramón Areces, Taravilla S.L. Madrid, España. p. 157-163.
- Rosas M. 1989. El género *Atriplex* (Chenopodiaceae) en Chile. *Gayana Botánica* 46(1-2): 3-82.
- Ventura Y., Eshel A., Pasternak D., Sagi M. 2015. The development of halophyte-based agriculture: Past and present. *Annals of Botany* 15(3): 529-540.