

CHLORIS CHILENSIS

Año 16. N° 2

PROPAGACIÓN IN VITRO DE *ALSTROEMERIA SPATHULATA* K. PRESL Y NUEVO LÍMITE SUR DE LA ESPECIE.

IN VITRO PROPAGATION OF *ALSTROEMERIA SPATHULATA* K. PRESL, AND NEW SOUTHERN
LIMIT OF THE SPECIES.

Patricia Letelier¹; Daniela Suazo¹; Daniel Green²; Ángel Cabello¹.

¹Jardín Botánico Chagual: patricialetelier.y@gmail.com; dsauazoh@gmail.com; ancale@gmail.com

²Consultora Meristema: danielgreen@meristema.cl

RESUMEN

En abril del año 2012 se extrajeron rizomas de *Alstroemeria spathulata* (Alstroemeriaceae) en el valle del río Las Damas al nororiente de la localidad termas de El Flaco, Región de O'Higgins, lugar ubicado casi 200 km más al sur del límite sur asignado a la especie. La determinación de la especie fue obtenida cuando uno de los rizomas cultivados en el vivero floreció.

Los ápices de los rizomas fueron desinfectados y cultivados en medio MS con la adición de 6-bencilaminopurina (BAP) en concentraciones de 0, 1, 2, 4 y 6 mg l⁻¹, con el objeto de activar y desarrollar brotes *in vitro*. Luego de 20 a 25 días de cultivo, se inició la activación de brotes, alcanzando algunos hasta 5 cm de longitud. La mayor tasa de multiplicación (2,3 brotes) se obtuvo con la adición de BAP 6 mg l⁻¹. Los rizomas que presentaban brotes de más de 2 cm de longitud se seccionaron verticalmente, cultivando por separado cada brote con su correspondiente segmento de rizoma. Durante las 8 semanas de cultivo, no se observó la iniciación de raíces en los rizomas.

ABSTRACT

In April 2012, rhizomes of Alstroemeria spathulata (Alstroemeriaceae) were extracted in the river valley Las Damas, northeast of Termas del Flaco, Region VI, place about 200 km further south of the southern limit assigned to the species. The identity of the species was confirmed when one of the rhizomes grown in the nursery, flowered.

The rhizomes apex were disinfected and cultivated on MS medium with the addition of 6 - benzylaminopurine (BAP) in concentrations of 0, 1, 2, 4 and 6 mg l⁻¹, in order to activate and develop shoots in vitro. After 20-25 days of culture, activation of shoots is initiated, some reaching up to 5 cm in length. The highest multiplication rate (2.3 shoots) was obtained with the addition of BAP 6 mg l⁻¹. The rhizomes that had shoots of more than 2 cm in length, were vertically sectioned, cultivating each shoot separately with the corresponding segment of rhizome. During the 8 weeks of culture, no root initiation was observed in the rhizomes.

INTRODUCCIÓN

Alstroemeria, pertenece a las *Alstroemeriaceae*, familia principalmente sudamericana que comprende hierbas perennes, raras veces anuales, erectas o trepadoras, que viven en un amplio rango de hábitats, desde bosques húmedos a pantanos y en áreas desérticas. La familia incluye dos géneros principales: *Alstroemeria* L., con alrededor de 50 especies, *Bomarea* Mirb., con alrededor de 100 especies y, además, al género monotípico *Leontochir* Phil., y dos géneros monotípicos polémicos, segregados de *Alstroemeria*: *Schickendantzia* Pax y *Taltalia* Ehr. Bayer (Aagesen & Sanso, 2003).

Alstroemeria es endémico de Sudamérica desde el sur de Venezuela y noroeste de Brasil (3-4° N) hasta Tierra del Fuego en Argentina (52 - 53°S), donde ocupa un amplio rango de hábitats (Sanso & Xifreda, 2001; Muñoz-Schick & Moreira-Muñoz, 2003; Sanso *et al.*, 2005). Existen dos centros principales de distribución de las especies: uno en Chile, que se extiende hacia el interior de Perú, Bolivia y Argentina y el otro en Brasil, Paraguay y Argentina (Sanso *et al.*, 2005).

Salvo *Alstroemeria graminea*, a veces incluida en *Taltalia*, las *Alstroemeria* son hierbas perennes con un sistema radicular rizomatoso del que emergen tallos aéreos y raíces, las que presentan tubérculos (Bond, 1991). Los rizomas son alargados, generalmente con estolones, de color blanco o crema y raíces nutricias carnosas. Sus tallos aéreos son erectos, rígidos o flexibles; el tallo fértil es más robusto que el vegetativo (Sanso & Xifreda, 2003).

El rizoma de las especies del género *Alstroemeria* puede ser corto y nudoso o, más frecuentemente, largo; en algunas especies los rizomas corren horizontalmente produciendo, en cada estación de crecimiento, tallos aéreos vegetativos portadores de hojas y, generalmente, un tallo florífero. Estos estolones permiten un crecimiento rápido de los brotes. El rizoma puede ser simple o ramificado, o compacto y cubierto por catafilos densamente imbricados. Las raíces jóvenes son delgadas y fibrosas, pero algunas de ellas se engrosan apicalmente y se convierten en órganos de almacenamiento de almidón, de forma cilíndrica o fusiforme, de color blanco o cremoso. Estas raíces carnosas son más o menos alargadas y delgadas, y se

ubican cerca o separadas del rizoma principal (Sanso & Xifreda, 2001).

Las especies de *Alstroemeria* son propagadas tradicionalmente mediante la división de sus rizomas; la producción de plantas por semillas es poco común debido a la alta incidencia de esterilidad y variabilidad de los ejemplares producidos (Bond, 1991; Sanso & Xifreda, 2001); sin embargo, la tasa de multiplicación resultante de la división de rizomas es bastante baja y, además, presenta restricciones estacionales. Para resolver estas limitaciones, se han desarrollado varios sistemas de micropropagación, a partir de ápices de rizomas y/o meristemas de rizomas (Lin *et al.*, 2000).

Alstroemeria spathulata es una hierba perenne con tallos floríferos de hasta 20 cm de altura; las hojas están dispuestas en rosetas basales, son glaucas, algo carnosas, de forma obovada u oblanceolada. La inflorescencia es una cima umbeliforme que tiene uno a cuatro rayos unifloros. Las flores tienen un perigonio formado por tépalos erectos, rosados o menos frecuentemente, blancos; los estambres tienen las anteras rosadas. El fruto es una capsula redondeada, de color atropurpúreo; las semillas son de color café rojizo. Las plantas florecen entre diciembre y febrero y fructifican a partir de enero (Muñoz-Schick & Moreira-Muñoz, 2003).

Alstroemeria spathulata se encuentra en la cordillera de los Andes, entre el cajón del río Chilón (32°20' S), provincia de San Felipe, y la localidad de Saladillo (33°05' S), en la provincia de Los Andes, Región de Valparaíso, a una altitud de 2200 a 3100 m, en suelos con cascajo suelto (derrubios), generalmente con pendientes fuertes (Muñoz-Schick & Moreira-Muñoz, 2003). Su forma de crecimiento es en cojín suelto y al igual que *Alstromeria umbellata*, una especie afín, mantiene su característico follaje denso durante todo el periodo de floración (Riedemann *et al.*, 2008). En relación con los caracteres para diferenciarlas, *Alstroemeria umbellata* tiene los tépalos externos redondeados y los internos casi siempre con una banda amarilla, en tanto que *Alstroemeria spathulata* tiene los tépalos externos obovados y agudos, y los internos sin la banda amarilla (Teillier *et al.*, 2011). De acuerdo con Muñoz-Schick & Moreira-Muñoz (2003) en *Alstroemeria umbellata* los tépalos externos son escotados y con un mucrón grueso apical, mientras que en *Alstroemeria spathulata* son obovados y con los bordes vueltos hacia adelante; agregan que, en estado estéril, ambas especies no se pueden diferenciar.

Si bien la especie no ha sido clasificada en términos de categorías de conservación en ninguno de los procesos del Ministerio del Medio Ambiente, se dispone de la clasificación hecha por Ravenna *et al.*, (1998), donde figura como entre las especies no amenazadas; sin embargo, Muñoz-Schick & Moreira-Muñoz (2003) la proponen como especie en peligro.

La búsqueda de métodos de propagación para especies amenazadas o en vías de amenaza, es de vital importancia para su conservación, en particular la propagación por semillas para mantener la variabilidad genética de las poblaciones. Lo anterior no quita validez a las técnicas de propagación vegetativa, ya que

de esta forma se pueden conservar *ex situ* ejemplares seleccionados. El caso particular del cultivo *in vitro*, permite además la obtención de un gran número de ejemplares mediante pequeñas secciones de la planta, sin extraer una gran cantidad de ellos, ni tener que coleccionar semillas.

En el presente artículo se entregan los resultados de los tratamientos aplicados a rizomas de plantas adultas de *Alstroemeria spathulata*, con el objeto de activar y desarrollar brotes *in vitro*, a partir de los rizomas y, de esta forma, propagar vegetativamente esta especie.

MATERIAL Y MÉTODOS

Rizomas

A mediados de abril de 2012, se coleccionaron rizomas de *Alstroemeria spathulata* (Figura 1), en un pedregal de exposición norte, con una pendiente aproximada de 40°, a 2250 m s.m., en el valle del río Las Damas, al nororiente de las termas de El Flaco (34°55'57,59''S – 70°22'38,03''O), comuna de San Fernando, Región de O'Higgins (Figuras 2, 3 y 4). Los rizomas fueron extraídos cuidadosamente conservando, dentro de lo posible, sus raíces y su parte aérea (Figura 4), conservados en cajas de poliestireno expandido con turba húmeda y transportados hasta las dependencias del Jardín Botánico Chagual.

Figura 1. Propagación *in vitro* de *Alstroemeria spathulata*:
rizoma extraído en terreno. En el extremo derecho (apical) presenta brotes aéreos en desarrollo.



Figura 2. Propagación *in vitro* de *Alstroemeria spathulata*: sitio de recolección de los rizomas de *Alstroemeria spathulata*, un pedregal de exposición norte con pendiente aproximada de 40°.



Figura 3. Propagación *in vitro* de *Alstroemeria spathulata*: Ejemplares que crecen en cascajo suelto de cordillera, hábitat natural de la especie. Se observan sus hojas reunidas en rosetas y la ausencia de flores.



Figura 4. Propagación *in vitro* de *Alstroemeria spathulata*: Extracción del rizoma en terreno. Se observan la profundidad a que se encuentra el rizoma, los brotes que quedaron sin sostén al remover el suelo y la profundidad que alcanzan las raíces.



Obtención, desinfección y cultivo de los explantes

Los explantes cultivados correspondieron al último centímetro del extremo apical de cada rizoma (Figura 5), al que se le eliminaron todos los brotes. Previo a la desinfección, la zona de corte de los explantes fue asperjada con una solución que contenía dos fungicidas (Bentale®-Captan®, 2g l⁻¹); su desinfección se inició con un lavado y un cepillado para remover los catafilos, y se les sumergió en una solución de hipoclorito de sodio (NaOCl) al 2,5% por 30 min, se llevaron a cabo tres enjuagues en agua destilada estéril, lo que corresponde a una modificación del método de desinfección de brotes florales inmaduros utilizado por Olate *et al.* (2009) en *Alstroemeria lutea* y *Alstroemeria pseudospathulata*.

Los explantes así desinfectados, se cultivaron en medio MS (Murashige & Skoog, 1962), 30 g l⁻¹ sacarosa, 7 g l⁻¹ agar, pH 5,7, carente de reguladores de crecimiento, mantenido en autoclave a 120°C durante 20 minutos. Los frascos con los explantes sometidos a asepsia fueron cultivados en oscuridad, a 25°C (+/- 3°C) durante cuatro semanas.

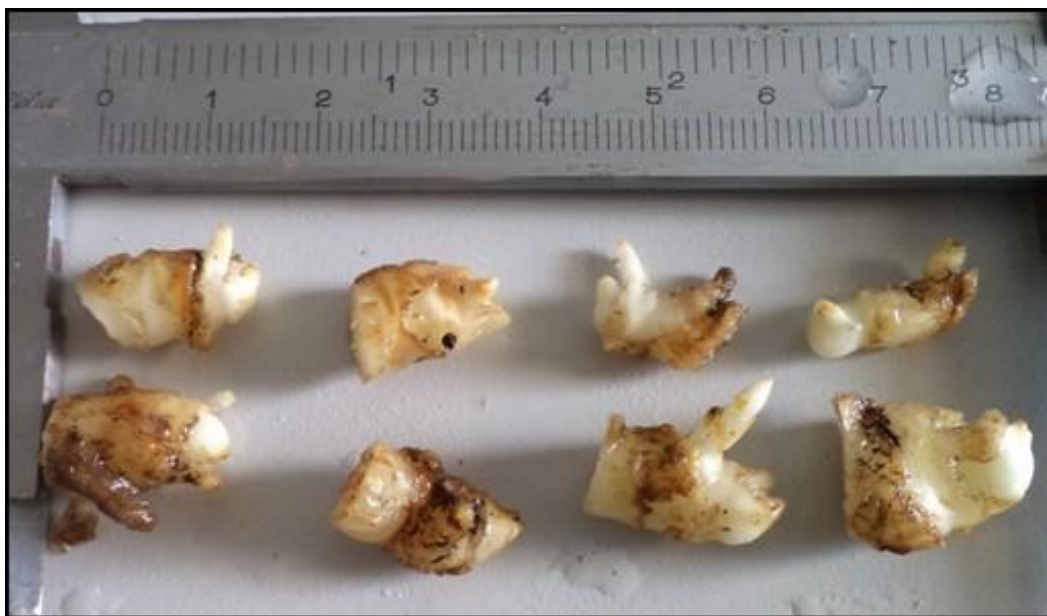
Los explantes no contaminados, fueron cultivados en medio MS, con la adición de 6-bencilaminopurina (BAP) en concentraciones de: 0, 1, 2, 4 y 6 mg l⁻¹. Los frascos, que contenían 10 ml de medio de cultivo

fueron mantenidos en autoclave a 120°C durante 20 minutos y se almacenaron por una semana, antes de ser usados, para comprobar que fuesen estériles.

Los explantes, una vez ubicados en los frascos sometidos a autoclave, se llevaron a cámara de cultivo a 25°C (+/- 3°C), en oscuridad. Se cultivaron 40 rizomas, 8 por cada concentración de BAP. Éstos se mantuvieron en cultivo con las concentraciones señaladas de BAP durante 4 semanas, buscando activar la formación de brotes en los rizomas, y luego 4 semanas en cultivo en el medio MS sin BAP, para permitir la elongación de los brotes iniciados. Al traspasar los rizomas al medio de cultivo fresco, y sólo si presentaban brotes iniciados de más de 2 cm de longitud, se seccionaron verticalmente, cultivando por separado cada brote con su correspondiente segmento de rizoma, o cada rizoma completo si no había desarrollado brotes. Una vez iniciada la emergencia de los brotes, los frascos fueron cultivados a la misma temperatura, pero con luz durante 16 h. Al término de los dos meses que tomó el ensayo, se evaluó la capacidad de formación de brotes.

Además del cultivo de rizomas, se probó el cultivo de los brotes aéreos que tenían inicialmente los explantes de rizomas (Figura 5) y que habían sido extirpados antes de iniciar el ensayo con los rizomas. Estos brotes se cultivaron en un medio de tipo MS con BAP en las mismas concentraciones que se emplearon para los experimentos con los rizomas y subcultivados sin BAP.

Figura 5. *Alstroemeria spathulata*, propagación *in vitro*. Explantes de ápice de rizoma, algunos presentan brotes en desarrollo.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Nuevo límite sur en la distribución de *Alstroemeria spathulata*

El material de propagación fue extraído de un lugar que sería sometido a trabajos que eliminarían los ejemplares, éstos, que al momento del rescate sólo presentaban tallos aéreos vegetativos portadores de hojas, fueron identificados como *Alstroemeria spathulata*, por uno de los rescatistas. Luego, el material fue donado al Jardín Botánico Chagual con el fin de propagarlo, donde parte del mismo fue plantado en platabandas y el resto se destinó al cultivo *in vitro*. En ausencia de las flores, en gabinete, se dudó de la determinación del ejemplar puesto que en estado vegetativo resulta complejo distinguir entre *Alstroemeria spathulata* y *A. umbellata* pues, de acuerdo con Muñoz-Schick & Moreira-Muñoz (2003) y Teillier *et al.* (2011), ambas se distinguen por las características de los tépalos de sus flores. Las dudas también estaban relacionadas con la localidad del hallazgo, que es más próxima a la distribución conocida de *Alstroemeria umbellata*, aunque fuera de los límites publicados por Muñoz-Schick & Moreira-Muñoz (2003).

A mediados de diciembre de 2013, uno de los ejemplares cultivado en platabanda a raíz desnuda en el vivero del jardín botánico Chagual floreció (Figuras 6-A, 6-B y 6-C) con lo que pudo ser determinado como *Alstroemeria spathulata* por M. Muñoz-Schick (com. pers.). En consecuencia, el nuevo límite sur de la especie correspondería a 34° 55' 58" S, localidad de valle del río Las Damas, comuna de San Fernando, Región de O'Higgins, aproximadamente 220 km al sur del límite sur conocido.

Figura 6-A. *Alstroemeria spathulata*, propagación *in vitro*. Ejemplar en floración, cultivado a partir de un rizoma en el Jardín Botánico Chagual (Santiago de Chile).



Figura 6-b: *Alstroemeria spathulata*, propagación *in vitro*. Ejemplar en floración, cultivado a partir de un rizoma en el Jardín Botánico Chagual (Santiago de Chile).



Figura 6-c: *Alstroemeria spathulata*, propagación *in vitro*. Ejemplar en floración, cultivado a partir de un rizoma en el Jardín Botánico Chagual (Santiago de Chile).



Desinfección de los explantes

La desinfección aplicada permitió que un 46,9% de los explantes sobreviviera, y pudiera ser objeto de los tratamientos con reguladores de crecimiento. Este resultado debe considerarse como positivo, ya que de acuerdo con Hamidoghli *et al.* (2010), la contaminación de los explantes obtenidos de rizomas de las especies del género *Alstroemeria* creciendo *in vivo*, es el principal problema para superar durante su cultivo *in vitro*.

Tasa de multiplicación de los explantes

La activación de brotes tuvo lugar luego de 20 a 25 días de cultivo, y los brotes iniciados se alargaron (Figuras 7 A y 7 B), alcanzando algunos hasta 5 cm de longitud, al ser subcultivados en el medio MS sin BAP.

La tasa de multiplicación real (TMR), definida como el cociente entre el número de propágulos finales y el número de explantes, para los rizomas a los que no se les aplicó BAP (testigos) fue de 1, vale decir, los rizomas se mantuvieron tal cual fueron introducidos al cultivo. Los rizomas sometidos a la acción del BAP que iniciaron brotes (entre 1 y 4 brotes por explante), fueron segmentados y cultivados separadamente, conservando en sus bases parte del rizoma (Figuras 7-A y 7-B); los explantes que no produjeron brotes continuaron su cultivo sin ser seccionados. La mayor TMR (2,3) se obtuvo con la adición de BAP 6 mg l⁻¹; las restantes concentraciones aplicadas dieron resultados semejantes, entre 1,6 y 1,7 (Figura 8). En cuanto a la tasa de multiplicación efectiva (TME), definida como el cociente entre el número de propágulos finales y el número de explantes, descontando las pérdidas, fue semejante al adicionar BAP al medio de cultivo, sin que influyera la concentración.

La adición de una citoquinina, en este caso BAP, fue indispensable para lograr la iniciación de brotes en los rizomas de *Alstroemeria spathulata*. Tanto el medio MS, como la adición de BAP, solo o combinado con otro regulador del crecimiento, son usados comúnmente por distintos investigadores en el cultivo de distintos explantes de *Alstroemeria* (Bond, 1991; Lyon, 1991; Van Schaik *et al.*, 1996; Lin *et al.*: 1998; Chiari y Bridgen, 2000; Lin *et al.*, 2000; Cruz *et al.*, 2003; Pérez-Cotapos, 2007; Khaleghi *et al.*, 2008; Hamidoghli *et al.*, 2010).

Durante las ocho semanas de cultivo, no se observó la iniciación de raíces en los rizomas. De acuerdo con Bond (1991), en tres cultivares de *Alstroemeria*, la producción de raíces fue severa o completamente inhibida por la presencia de BAP, dependiendo la intensidad del efecto del cultivar propagado; sin embargo, el crecimiento y calidad de los explantes mejoró consistentemente cuando había presencia de BAP en el medio de cultivo. En el cultivo *in vitro* de *Alstroemeria x hybrida* cv. “Juanita”, Podwyszynska *et al.* (1997) observaron que al adicionar la más alta concentración de BAP ensayada (6 mg l⁻¹), el enraizamiento de los rizomas fue el más pobre y los brotes alcanzaron la menor longitud, sin embargo, se

obtuvo el mayor número de brotes.

En el cultivo de los brotes aéreos que tenían inicialmente los explantes de rizomas (Figura 5) y que fueron seccionados antes de iniciar el ensayo, luego de 24 semanas, sólo se logró que incrementaran su longitud y, aunque se seccionaron, no formaron yemas adventicias ni enraizaron espontáneamente. La asepsia conseguida en ellos (76,2%) fue muy superior a la lograda en los rizomas.

Una tasa de multiplicación semejante a la de esta investigación (TMR 2,25; Figura 8) realizada en *Alstroemeria spathulata*, alcanzaron Lin *et al.* (2000), en el cultivo *in vitro* de rizomas de seis cultivares del mismo género. Como consideraron baja la tasa de multiplicación que obtuvieron (2,3), cultivaron además los brotes (5 cm de longitud) iniciados por los rizomas, seccionándolos en tres nuevos explantes, cada uno constituido por una hoja, su axila y una pequeña porción del nudo del tallo. Al ser cultivados en medio MS con BAP 0,5 mg l⁻¹, indujeron la formación de yemas adventicias en la región de la axila de la hoja, a partir de la capa epidermal de las células periféricas del tallo. Después de 40 días, los brotes desarrollados a partir de estas yemas adventicias fueron aislados y cultivados por separado en frascos individuales; finalmente los llevaron al invernadero. De esta forma, dichos investigadores demostraron que se puede incrementar la tasa de multiplicación *in vitro* en *Alstroemeria*.

En concordancia con lo anterior, sería recomendable probar la metodología desarrollada por Lin *et al.* (2000), no sólo en *Alstroemeria spathulata*, sino también en otras *Alstroemeria* nativas.

Figura 7-A: *Alstroemeria spathulata*, propagación *in vitro*. Desarrollo de brotes en rizoma.



Figura 7-B. *Alstroemeria spathulata*, propagación *in vitro*. Desarrollo de brotes en rizoma: separación de los brotes al ser traspasados a medio fresco.

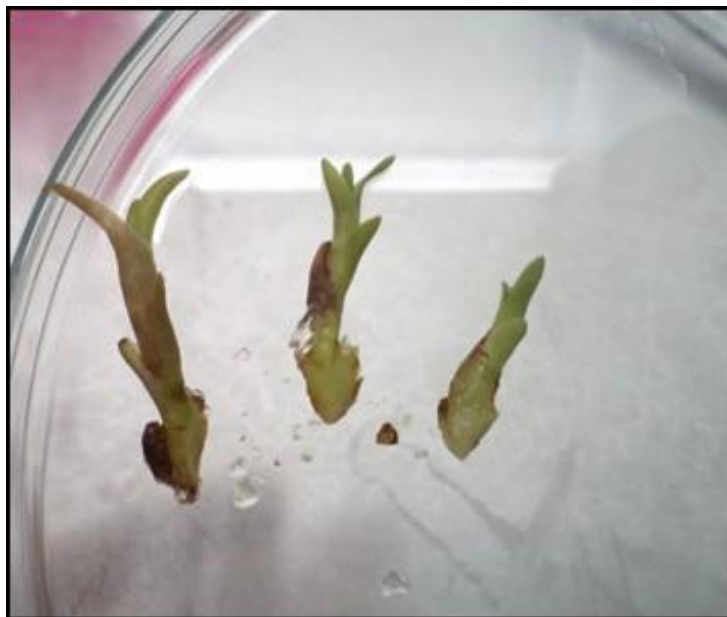
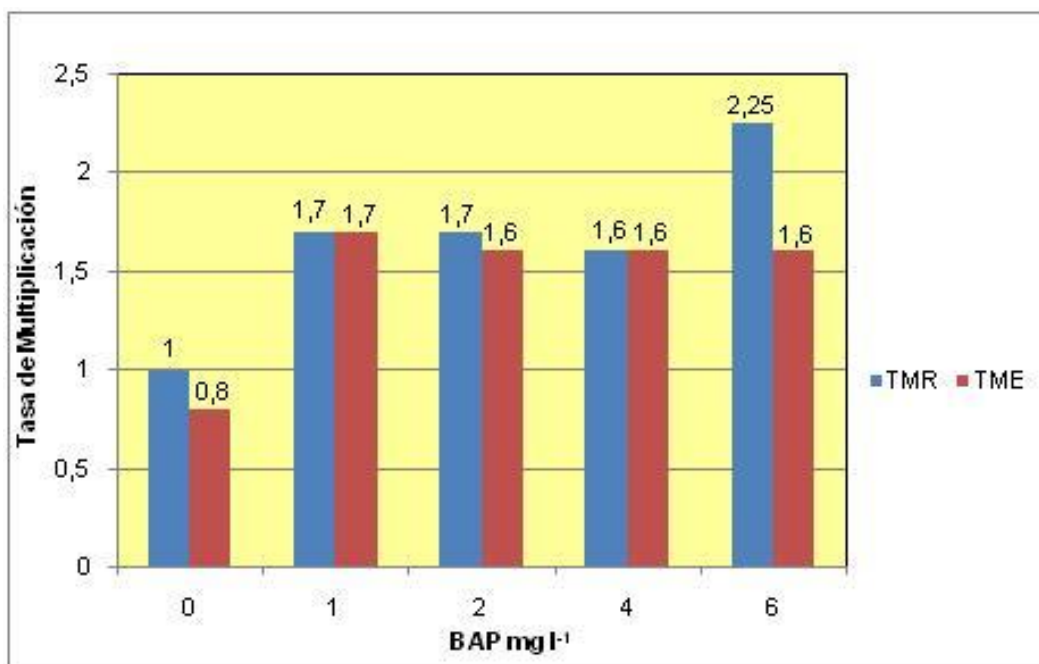


Figura 8: *Alstroemeria spathulata*, propagación *in vitro*. Tasa de multiplicación real (TMR) y efectiva (TME) según concentraciones de BAP.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AAGESEN, L. & SANZO, A.M. 2003. The phylogeny of the Alstroemeriaceae, based on morphology, rps16 Intron, and rbcL sequence data. *Systematic Botany*, 28 (1): 47–69.
- BOND, S. 1991. Control of rhizome growth in *Alstroemeria*. Thesis Doctor of Philosophy. University of Nottingham, Department of Agriculture and Horticulture. 145 pp.
- CHIARI, A. & BRIDGEN, M. 2000. Rhizome splitting: a new micropropagation technique to increase in vitro propagule yield in alstroemeria. *Plant Cell, Tissue and organ Culture*, 62 (1): 39-46.
- CRUZ, I.; ANGARITA, A. & MOSQUERA, T. 2003. Inducción de embriogénesis somática en *Alstroemeria* spp. *Agronomía Colombiana*, 1 (3): 121-128.
- FONT QUER, P. 2001. Diccionario de Botánica. 2ª Ed. Ediciones Península. Barcelona. 1244 p.
- HAMIDOGHLI, Y., BOHLOLI, S. & HATAMZADEH, A. 2010. In vitro propagation of *Alstroemeria* using rhizome explants derived in vitro and in pot plants. *African Journal of Biotechnology*, 6 (18): 2147-2149.
- KHALEGHI, A.; KHALIGHI, A.; SAHRAROO, A.; KARIMI, M.; RASOULNIA, A.; GHAFOORI, I.N. & ATAIE, R. 2008. *In vitro* propagation of *Alstroemeria* cv. 'Fuego'. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 3 (3): 492-497.
- LIN, H. S.; DE JEU, M. J. & JACOBSEN, E. 1998. Formation of shoots from leaf axils of *Alstroemeria*: The effect of the position on the stem. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 52 (3): 165-169.
- LIN, H.S.; DE JEU, M.J. & JACOBSEN, E. 2000. The application of leafy explant micropropagation protocol in enhancing the multiplication efficiency of *Alstroemeria*. *Scientia Horticulturae*, 85: 307-318.
- LYON, G. 1991. Bases biológicas para la regeneración *in vitro* de *Alstroemeria*. Memoria Ing. Agrónomo. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. 114 p.
- MUÑOZ-SCHICK, M. & MOREIRA-MUÑOZ, A. 2003. Alstroemerias de Chile: diversidad, distribución y conservación. Taller La Era, Santiago, Chile. 140 p.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, 15(3): 473-497.
- OLATE, E.; SEPULVEDA, C.; ESCOBAR, L.; ENCINA, C.; WILMANS, M. JARAMILLO, C. & SOTO, C. 2009. Utilización de distintos explantes iniciales en el rescate y propagación *in vitro* de especies chilenas del género *Alstroemeria*. En: 7º Simposio de Recursos Genéticos para América Latina y el Caribe. Temuco, 28-30 Octubre, 2009. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Centro Regional de Investigación Carillanca. Vol. 1: 423-424.

- PEREZ-COTAPOS, J. 2007. Cruzamientos interespecíficos en *Alstroemeria* sp. y rescate de embriones *in vitro* como base del mejoramiento genético de la especie. Memoria Ing. Agrónomo. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago de Chile. 28 pp.
- PODWYSZYNSKA, M.; GABRYSZEWSKA, E. & PRZYBYLA, A. 1997. Micropropagation of *Alstroemeria x hybrida* cv. "Juanita". Acta Horticulturae (ISHS), 447:175-178.
- RAVENNA, P., S. TEILLIER, J. MACAYA, R. RODRÍGUEZ & O. ZÖLLNER. 1998. Categorías de conservación de las plantas bulbosas nativas de Chile. Boletín del Museo Nacional de Historia Natural 47: 47-68.
- RIEDEMANN, P.; ALDUNATE, G. & TEILLIER, S. 2008. Flora nativa de valor ornamental. Zona Cordillera. Corporación Jardín Botánico Chagual. Santiago de Chile. 674 pp.
- SANSO, A.M. & XIFREDA, C.C. 2001. Generic delimitation between *Alstroemeria* and *Bomarea* (Alstroemeriaceae). Annals of Botany, 88: 1057-1069.
- SANSO, A.M. & XIFREDA, C.C. 2003. Alstroemeriaceae Dumort. Flora Fanerogámica Argentina. Fascículo 85. ProFlora Conicet. Córdoba, Argentina. 14 pp.
- SANSO, A.M., ASSIS, M.C. & XIFREDA, C.C. 2005. *Alstroemeria*: a charming genus. Acta Horticulturae (ISHS), 683: 63-77.
- TEILLIER, S.; MARTICORENA, A. & NIEMEYER, H. 2011. Flora Andina de Santiago. Guía para la identificación de las especies de las cuencas del Maipo y del Mapocho. Imprenta Puntografix. 480 p.
- VAN SCHAIK, C.E.; POSTHUMA, A.; DE JEU, M. J. & JACOBSEN, E. 1996. Plant regeneration through somatic embryogenesis from callus induced on immature embryos of *Alstroemeria* L. Plant Cell Reports, 15: 377-380.

Citar este artículo como:

Letelier,P.; D. Suazo; D. Green; A. Cabello. 2013. Propagación *in vitro* de *Alstroemeria spathulata* K. Presl y nuevo límite sur de la especie. Chloris Chilensis Año 16 N° 2. URL: <http://www.chlorischile.cl>.
Versión PDF: pp. 1-14.
