

MEJORAMIENTO GENÉTICO DE *ALSTROEMERIA* EN LA ARGENTINA: OBTENCIÓN DE HÍBRIDOS A TRAVÉS DE RESCATE DE EMBRIONES

PAKOCA, C.¹; BUGALLO, V.² & FACCIUTO, G.²

RESUMEN

El género *Alstroemeria* comprende cerca de 90 especies restringidas a América del Sur, de las cuales, 10 se distribuyen en la Argentina. Su cultivo ha crecido en popularidad debido a la variedad de colores y calidad postcosecha de sus flores.

El objetivo de este trabajo fue el estudio de la compatibilidad entre *A. psittacina* y 9 variedades de alstroemeria y el ajuste de la técnica de rescate de embriones.

El estudio del crecimiento del tubo polínico permitió detectar distintas situaciones según las variedades. El número de embriones germinados y la obtención de plántulas normales varió respecto a la variedad y al tiempo al rescate. En el caso de los cruzamientos con “Belvedere”, la mayor cantidad de embriones germinados se produjo a los 14 días post polinización (DPP), para “Cartagena” a los 7 DPP y para “Costa Azul” no se detectaron diferencias significativas entre ambos tiempos.

Se obtuvieron plántulas en los cruzamientos con “Belvedere”, “Cartagena”, “Costa Azul”, “Himalaya” y “Virginia”. La eficiencia reproductiva mayor fue en “Costa Azul” siendo 6,6 y 8,4 para los rescates a 7 y 14 DPP, respectivamente.

Estos resultados permitirán el avance del plan de mejoramiento de *Alstroemeria* para la obtención de variedades argentinas.

Palabras clave: ornamentales, híbridos interespecíficos, barreras pre y postcigóticas, plantas nativas.

1.- Cooperativa Argentina de Floricultores. Olavarría 3240. Barracas, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

5.- Instituto de Floricultura INTA Castelar. Los Reseros y Las Cabañas s/n, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. facciuto.gabriela@inta.gob.ar

Manuscrito recibido el 14 de abril de 2020 y aceptado para su publicación el 1° de julio de 2020.

ABSTRACT

Breeding in *Alstroemeria* in Argentina: obtaining hybrids through embryo rescue.

The *Alstroemeria* genus comprises about 90 species restricted to South America, 10 species are distributed in Argentina. Its cultivation has grown in popularity due to the variety of colors and post-harvest quality of its flowers.

The objective of this work was the study of the compatibility between *A. psittacina* and 9 alstroemeria varieties and the adjustment of the embryo rescue technique.

The study of the growth of the pollen tube allowed to detect different situations according to the varieties. The number of germinated embryos and the obtaining of normal seedlings varied with respect to the variety and time to rescue. In the case of crosses with “Belvedere”, the highest number of germinated embryos was produced at 14 days post pollination (DPP), for “Cartagena” at 7 DPP and for “Costa Azul”, no significant differences were detected between both times. Seedlings were obtained in the crosses with “Belvedere”, “Cartagena”, “Costa Azul”, “Himalaya” and “Virginia”. The highest reproductive efficiency was in “Costa Azul” being 6,6 and 8,4 for rescues at 7 and 14 DPP, respectively.

These results will allow the advancement of the Alstroemeria breeding program to obtain Argentine varieties.

Key words: ornamentals, interspecific hybrids, pre and postzygotic barriers, native plants.

INTRODUCCIÓN

El género *Alstroemeria* (*Alstroemeriaceae*) comprende cerca de 90 especies restringidas a América del Sur (Assis, 2003) siendo Chile y Brasil los principales centros de diversidad (Han *et al.*, 2000). En la Argentina, se distribuyen 10 especies de las cuales, *A. bakeri* es endémica en la provincia de Catamarca (Sanso, 1996).

El cultivo de alstroemeria ha crecido en popularidad mundialmente debido a la amplia variedad de colores y muy buena calidad postcosecha de sus flores. En la Argentina, ocupa el séptimo lugar entre las especies producidas de flores de corte en el área metropolitana de Buenos Aires (Villanova *et al.*, 2013). Es de destacar, que ocu-

pa el cuarto lugar respecto al ingreso total de paquetes de flores cortadas al mercado de la Cooperativa Argentina de Floricultores (Cooperativa Argentina de Floricultores Ltda., 2015).

Las variedades que se comercializan en el mundo han sido desarrolladas principalmente en Holanda y se obtuvieron a partir de cruzamientos interespecíficos, tratamientos mutagénicos e inducción de poliploidía (Hoshino, 2008). Las especies más utilizadas en el mejoramiento han sido *A. psittacina*, originaria de Brasil, Paraguay, Uruguay y Argentina, *A. caryophyllaea* de Brasil, *A. aurea* de Argentina y Chile y *A. ligtu*, *A. versicolor*, *A. revoluta*, *A. pelegriana*, *A. violacea* y *A. hookeri* de Chile (Sanso *et al.*, 2005).

La hibridación interespecífica en *Alstroemeria* está limitada por barreras postcigóticas que se traducen en aborto del embrión asociado a un crecimiento retardado del mismo, falta de celularización del endosperma y degeneración del tejido esporofítico (De Jeu y Calderé, 1997). Por tal motivo, fue necesario aplicar la técnica de rescate de embriones y su posterior cultivo in vitro, con diferentes métodos y modificaciones en el medio de cultivo para la obtención de híbridos (Buitendijk *et al.*, 1992; Buitendijk *et al.*, 1995; De Jeu *et al.*, 1992; De Jeu y Jacobsen, 1995). De acuerdo a Buitendijk *et al.* (1992), el éxito en el rescate de embriones en *Alstroemeria* depende de la edad del óvulo al momento del rescate, la concentración de sacarosa en el medio de cultivo y el tiempo hasta el aborto del óvulo en el cruzamiento interespecífico, evento que tiene lugar generalmente entre los 10 y 20 DPP. Tombolato *et al.* (1993) utilizaron diferentes medios de cultivo con el agregado de diferentes concentraciones de ácido giberélico, benciladenina y ácido naftalenacético en rescates de óvulos provenientes de cruzamientos entre especies brasileñas, chilenas y variedades. Dichos autores señalaron degeneración de los óvulos entre los 10 y 14 DPP, un mayor porcentaje de embriones germinados en medio de cultivo Murashigue y Skoog (MS) y el efecto negativo de hormonas en el medio de cultivo. Para el cruzamiento entre *A. pelegrina* var. *rosea* y *A. magenta* se obtuvieron híbridos a través del cultivo de óvulos con placenta de 7 a 14 DPP en MS y 3% de sacarosa (Ishikawa *et al.*, 2001). Lu y Bridgen (1996) también encontraron que el mejor medio de cultivo fue MS sin reguladores de crecimiento y el cultivo de los óvulos recolectados a los 7 DPP.

Pakoca (2015) realizó un estudio exploratorio que permitió identificar los mejores genotipos con el fin de iniciar un plan de cruzamientos para el mejoramiento genético de *Alstroemeria* en la Argentina. Se seleccionó un genotipo de *A. psittacina* como mejor parental masculino para la realización de cruzamientos interespecíficos. A partir de dicha selección se planteó la posibilidad de obtener híbridos entre *A. psittacina* y variedades con el objetivo de obtener menor requerimiento en cuanto a bajas temperaturas de suelo para producir varas florales.

Es importante mencionar que no se hallaron reportes de este tipo ya que generalmente son realizados por empresas privadas y son secretos comerciales. Por el mismo motivo, no se dispone de información acerca de la genética de las variedades utilizadas en este trabajo por lo que se tomó el valor de viabilidad del polen como una forma de estimación de la fertilidad para ser empleadas como parentales femeninos. Tsuchiya y Hang (1987) estudiaron los cromosomas de 9 especies y 25 variedades comerciales y describieron a *A. psittacina* como diploide ($2n=2x=16$) y las variedades como poliploides con un gran número de triploides y tetraploides, debido probablemente al uso de técnicas de inducción de poliploidía en el mejoramiento genético.

El objetivo de este trabajo fue el estudio de la compatibilidad entre *A. psittacina* y variedades comerciales y la optimización de la técnica de rescate de embriones in vitro para la obtención de variedades argentinas con bajo requerimiento de vernalización para la producción.

MATERIALES Y METODOS

Material vegetal

Los materiales utilizados para este estudio fueron un genotipo selecto de *A. psittacina* (Pakoca, 2015) y las variedades comerciales “Orange Queen”, “Sacha”, “Senna”, “Virginia” y “Belvedere” de la empresa Van Zanten; “Cartagena” y “Costa Azul” de Hilverda y “Fuego” e “Himalaya” de Könst. Los genotipos se cultivaron en parcelas bajo invernáculo con control de temperatura mínima de 10°C, riego manual y fertilización quincenal (Fig. 1).

Viabilidad del polen

Se determinó la viabilidad del polen por el método de Alexander (1969) como una forma indirecta para estimar la fertilidad de las variedades empleadas como parentales femeninos. Cabe destacar que, en general el origen de las variedades permanece como un secreto comercial de las empresas obtentoras.

Observaciones del crecimiento del tubo polínico

Se realizó un estudio exploratorio del crecimiento del tubo polínico en pistilos de las variedades comerciales polinizados con *A. psittacina* a fin de evaluar la factibilidad de éxito. La preparación y observación de los pistilos se realizó de acuerdo a la técnica propuesta por Martín (1959). A los 2 DPP, los pistilos fueron recolectados y se colocaron en FAA, (formol, ácido acético y etanol en proporción 1:0.5:8), al menos, durante 24 horas. Los pistilos se lavaron con agua destilada y luego fueron sumergidos en hidróxido de sodio 0,8 N y colocados en estufa a 60°C durante 20 minutos. Luego, fueron lavados nuevamente con agua destilada y finalmente fueron teñidos con azul

de anilina 1% en agua. Los pistilos se montaron sobre un portaobjetos con una gota de la mencionada solución, se cubrieron con un cubreobjetos, presionándolo levemente. Los preparados se observaron con microscopio de epifluorescencia OLYMPUS BX 50 (Japón) con filtros de excitación y emisión de 330-385 nm y 420 nm, respectivamente.

Cruzamientos

Se realizaron cruzamientos dirigidos entre variedades comerciales y *A. psittacina*. Para ello, las flores de las variedades comerciales se emascularon antes de que ocurra la antesis y se eliminó la corola para evitar la atracción de polinizadores. Cuando el estigma se encontró receptivo, hecho indicado al presentarse tripartito y con gotas de líquido estigmático, se procedió a la polinización con polen fresco de *A. psittacina*. Se realizaron al menos 20 cruzamientos por combinación.

Rescate de embriones

Se colectaron frutos a los 7 y 14 DPP. Los frutos se desinfectaron por inmersión en alcohol etílico al 70% durante 2 minutos y posteriormente fueron flameados, seguidos de una nueva inmersión y flameado. Se seccionó el ovario mediante tres cortes sagitales simétricos bajo flujo laminar, se extrajeron las placentas con los óvulos y se sembraron en cajas de Petri de 9 cm con 25 ml de medio de cultivo esterilizado en autoclave en condiciones estándar.

Se utilizó medio de cultivo MS modificado, macro elementos al 50%, sacarosa 40 g/l y glutamina 146 mg/l y 7 g/l de agar según Lu y Bridgen (1996). Las cajas se colocaron en cámara de cultivo a 25°C ± 2 con nictoperíodo de 24 h.

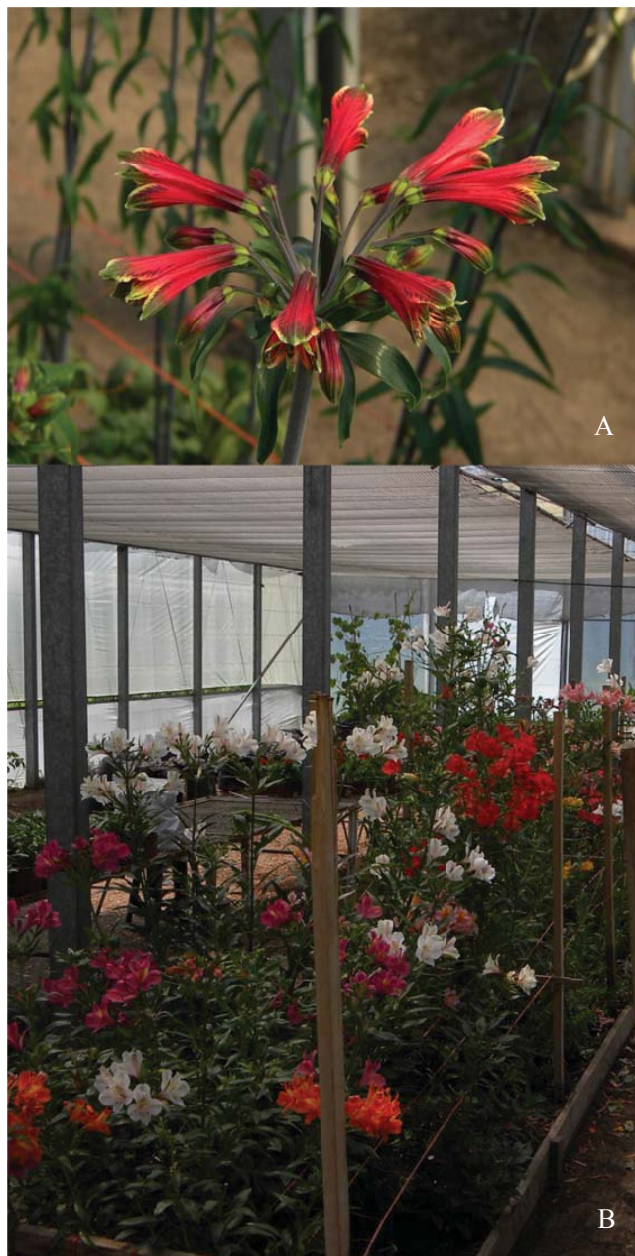


Figura 1: Alstroemeria psittacina (A) y variedades comerciales utilizadas como parentales femeninos (B) cultivadas en invernáculo en el Instituto de Floricultura, INTA.

Figure 1: Alstroemeria psittacina (A) and commercial varieties used as female plants (B) cultivated in greenhouse in the Institute of Floriculture, INTA.

Los óvulos cuyos embriones iniciaron su desarrollo emitiendo la radícula, se repicaron a tubos de ensayo con medio de cultivo $\frac{1}{2}$ MS y 0,5 mg/l de N6-bencilaminopurina (BAP). Los tubos se colocaron en cámara de cultivo a 25°C con fotoperiodo de 12 h e intensidad de 4000 lux.

Cuando las plántulas obtenidas desarrollaron brotes de aproximadamente 1,5 cm se repicó a frascos de 125 cm³, con $\frac{1}{2}$ MS y 0,2 mg/l de ácido 3-indolbutírico (IBA). Los mismos fueron colocados bajo un régimen de iluminación y temperatura igual a la etapa anterior.

Las plantas fueron trasplantadas a macetas de 600 cm³ con un sustrato compuesto por turba, perlita y vermiculita (1:1:1), las cuales se colocaron en cámara de cultivo a 25°C y atmósfera controlada mediante un saco de polietileno cerrado durante 15 días, condición seguida por una apertura gradual del mismo durante los siguientes 15 días.

Los datos se analizaron por test de diferencia de proporciones y ANOVA ($p \leq 0.05$) con el programa INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2011). Dicho análisis se hizo por variedad considerando los óvulos polinizados que derivan del número de cruzamientos por el número de óvulos por ovario. Para obtener el valor de óvulos por ovario se contaron todos los óvulos de 10 ovarios bajo lupa.

Eficiencia reproductiva

Se calculó la eficiencia reproductiva (ER) mediante la relación entre el número de óvulos cuyo embrión germinó, respecto del total de óvulos involucrados en la polinización, considerando todos los cruzamientos de la combinación evaluada y utilizando el número medio de óvulos por ovario del progenitor estilado.

$$ER = \frac{(\text{N}^\circ \text{ embriones germinados})}{(\text{N}^\circ \text{ polinizaciones})} \times (\text{media óvulos por ovario})$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al iniciar un plan de mejoramiento, es muy importante conocer o estimar la fertilidad de las plantas que participarán como parentales. Teniendo en cuenta que, las variedades empleadas en este trabajo son híbridas, característica mencionada en los registros de patentes, y que la capacidad de producir descendencia proviene del éxito que un genotipo posee para realizar una meiosis normal, se estudió la viabilidad del polen como parámetro de referencia de cada genotipo para actuar como parental femenino. La viabilidad del polen de las variedades consideradas en este estudio fue muy variable. “Costa Azul” presentó un valor de 54,18 %, significativamente mayor al resto de las variedades, seguida por “Cartagena” y “Belvedere” siendo 41,03% y 29,72%, respectivamente (Tabla 1).

El estudio del crecimiento del tubo polínico en pistilos permitió detectar distintas situaciones según las variedades consideradas (Tabla 1). En algunas combinaciones, se observó que los tubos polínicos llegaban hasta el ovario con un crecimiento sin acumulaciones de calosa anómalas como en las variedades “Belvedere”, “Cartagena” y “Costa Azul”. En “Sacha” hubo detención del crecimiento de los tubos polínicos en la primera mitad del estilo y en “Himalaya”, y “Senna”, en la segunda mitad. En algunas combinaciones, se observó crecimiento irregular en el diámetro de los tubos y las deposiciones de calosa, con algunas termi-

Tabla 1: Viabilidad de los granos de polen de variedades comerciales de *Alstroemeria* (%) y crecimiento del tubo polínico a los 2 DPP en los cruzamientos con *A. psittacina* (moda).

Table 1: Pollen grain viability of *Alstroemeria* commercial varieties (%) and pollen tube growth at 2 days after pollination in crossings with *A. psittacina* (mode).

Variedades	Granos de polen viables (N°)	Granos de polen inviables (N°)	Viabilidad (%)	Crecimiento de tubo polínico* (moda)
"Belvedere"	96	227	29,72 c	4
"Cartagena"	238	342	41,03 b	4
"Costa Azul"	259	219	54,18 a	4
"Fuego"	33	425	7,20 e	4
"Himalaya"	54	309	14,80 d	3
"Orange Queen"	33	545	5,71 e	0
"Sacha"	28	385	6,78 d	2
"Senna"	45	334	11,87 d	3
"Virginia"	46	471	8,89 d	0

* 0- polen sin germinar en el estigma, 1- polen germinado en el estigma, 2- tubos polínicos en la primera mitad del estilo, 3- tubos polínicos en la segunda mitad del estilo, 4- tubos polínicos en el ovario.

Letras distintas indican diferencias significativas en prueba de diferencia de proporciones granos de polen viables/total (α 0,05).

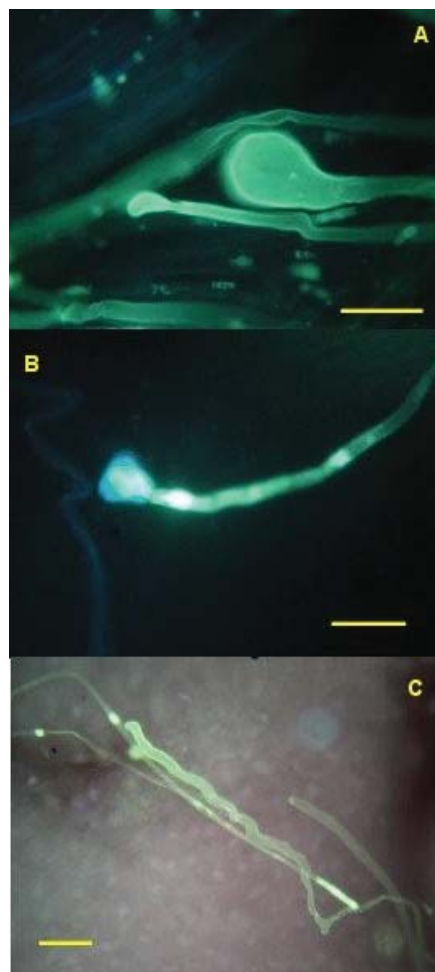
naciones globosas, trayectorias erráticas y/o serpenteantes como en "Sacha" y "Fuego" (Fig. 2). En "Orange Queen", se observó el caso extremo de incompatibilidad, ya que los granos de polen de *A. psittacina* no lograron germinar en el estigma.

Estos análisis demostraron que, aparte de la incompatibilidad postcigótica ampliamente reportada por numerosos investigadores y compendiada por Hoshino (2008) para el género *Alstroemeria*, también pueden aparecer signos de incompatibilidad precigótica tales como las halladas en este trabajo, como detención del crecimiento del tubo polínico y/o crecimiento anómalo del mismo en algunas combinaciones. La manifestación de barreras precigóticas en los cruzamientos con las variedades "Hi-

malaya", "Sacha", "Senna", "Fuego" y "Orange Queen", lleva a proponer otro tipo de métodos para sortearlas. En el caso de la variedad "Orange Queen", en que no se observaron granos de polen germinados en los estigmas, algunos de los métodos que se pueden ensayar para superar las barreras son: polinización con polen hidratado, polinización de estilos cortados, uso de la técnica del polen mentor, tratamientos térmicos para inactivar las proteínas que generan la incompatibilidad y fertilización *in vitro*, entre otros (van Tuyl y De Jeu, 2005; Cubero, 2003). En los casos en que el tubo polínico se detuvo en el estilo (cruzamientos con las variedades "Himalaya", "Sacha", "Senna" y "Fuego"), algunos de los métodos para sortear esta barrera podrían ser: el injerto de estilo, la

Figura 2: Anomalías en el crecimiento del tubo polínico en pistilos de variedades comerciales de *Alstroemeria* polinizados con *A. psittacina* a los 2DPP. A. terminaciones globosas anormales en la mitad del estilo en "Sacha" y B. en "Fuego", C. Crecimiento serpenteante del tubo polínico en el ovario con variación del diámetro en Sacha. Barra=50 μ m.

Figure 2: Abnormalities in pollen tube growth in varieties pistils of *Alstroemeria* commercial varieties pollinated with *A. psittacina* at 2 days after pollination. A. abnormal globose endings in the middle of style of "Sacha", B. "Fuego". C. Winding growth of the pollen tube in the ovary with variation of the diameter in Sacha. Barrs=50 μ m.



polinización de estilos cortados, polinización con polen mentor, uso de reguladores de crecimiento, polinización en pimpollo y/o polinización directa en ovarios o en óvulos (Cubero, 2003; Van Tuyl, 1997). Payán y Martín (1975), probaron la eficacia de la aplicación de ácido giberélico y de alfa-naftalenacetamida en concentraciones del 1% a la base de ovarios de distintas especies de *Passiflora*. Van Tuyl (1997) afirma que, además de las giberelinas, la aplicación de auxinas o citoquininas al pedicelo o al ovario mejoró la fructificación en *Lilium* y *Tulipa*.

El rescate y posterior cultivo *in vitro* de los óvulos luego de la polinización de las variedades con *A. psittacina* puso en evidencia distintas respuestas de las combinaciones, las que primero se manifestaron en el grado de desarrollo del ovario y posteriormente en la cantidad de frutos rescatables, es decir los que no abortaron a los 7 y 14 DPP (Tabla 2). Es importante mencionar que en muy pocos casos se observó desarrollo de callo y en los casos en que se presentó no hubo desarrollo de organogénesis somática.

Tabla 2: Cruzamientos realizados entre variedades comerciales de *Alstroemeria* y *A. psittacina*, ovarios rescatados in vitro, embriones germinados, plántulas normales y eficiencia reproductiva (ER).

Table 2: Crossings among *Alstroemeria* commercial varieties and *A. psittacina*, ovaries rescue in vitro, germinated embryos and normal seedlings and reproductive efficiency (ER).

Madres	DP P	Cruza- mientos (N°)	Ovarios rescatados (N°)	Embriones germinados (N°)	Plántulas Normales (N°)	ER
"Belvedere"	7	20	11 a	4 a	3 a	1,53
	14	27	17 a	14 b	6 a	3,95
"Cartagena"	7	31	29 a	11b	11 a	1,77
	14	27	15 b	2 a	2 b	0,37
"Costa Azul"	7	10	10 a	11 a	11 a	6,6
	14	10	10 a	14 a	8 a	8,4
"Fuego"	7	12	6 a	0	0	0
	14	14	7 a	0	0	0
"Himalaya"	7	133	114 a	3	2	0,11
	14	94	37 b	0	0	0
"Orange Queen"	7	35	32 a	0	0	0
	14	39	24 b	0	0	0
"Sacha"	7	22	13 a	0	0	0
	14	20	1 b	0	0	0
"Senna"	7	41	31 a	0	0	0
	14	58	24 b	0	0	0
"Virginia"	7	42	36 a	0	0	0
	14	78	42 b	7	7	0,47

Número promedio de óvulos por ovario para cálculo de ER: "Belvedere" 13, "Cartagena" 20, "Costa Azul" 17, "Himalaya" 21, "Virginia" 19.

Letras diferentes indican diferencias significativas en test de diferencia de proporciones ovarios rescatados/cruzamiento, óvulos germinados/cruzamientos x número promedio de óvulos por ovario y plántulas normales/cruzamientos x número promedio de óvulos por ovario (α 0,05).

El número de embriones germinados y la obtención de plántulas normales aclimatadas variaron según la variedad parental y el tiempo al rescate. Para el caso de los cruzamientos con "Belvedere", la mayor cantidad de embriones germinados se produjo a los 14 DPP, para "Cartagena" a los 7 DPP y para "Costa Azul" no se detectaron diferencias significativas entre ambos tiempos al rescate evaluados.

La cantidad de plántulas normales aclimatadas fue menor a los embriones germinados ya que aparecieron plantas poco vigorosas y con deformidades en sus hojas las que se descartaron. Estas anomalías, signo de una barrera postfertilización, comúnmente aparecen en la hibridación interespecífica (Shivana, 2005). Estas barreras pueden deberse a defectos en la semilla híbrida que reprimen la germinación, a de-

bilidad o letalidad vegetativa del híbrido, a su esterilidad o a la de generaciones posteriores (Baack *et al.*, 2015).

Se obtuvieron plántulas con desarrollo de yemas y raíces normales en los cruza- mientos con “Belvedere” (9), “Cartagena” (13), “Costa Azul” (19), “Himalaya” (2) y “Virginia” (7) (Tabla 2). La secuencia del rescate *in vitro* y crecimiento de las plantas se presenta en la Fig. 3. La mayor eficiencia reproductiva se dio en “Costa Azul” siendo 6,6 y 8,4 para los rescates a 7 y 14 DPP, respectivamente. Se puede sugerir que la res- puesta al rescate *in vitro* depende del genoti- po utilizado, tal como afirmaron Lu y Brid-

gen (1996). Es importante mencionar que el origen genético de las variedades es secreto comercial de las empresas mejoradoras y el análisis de las patentes disponibles sólo indican un origen híbrido. Aros *et al.* (2006) estimaron la diversidad genética de 9 entra- das de *Alstroemeria*, incluyendo *A. psittac- cina* y 10 variedades comerciales, entre ellas “Sacha” y otras de las empresas mejoradoras de las variedades utilizadas en este trabajo, indicando que variedades se agrupan junto a las especies silvestres a través de marca- dores RAPD, sugiriendo que comparten un bagaje genético relativamente estrecho.

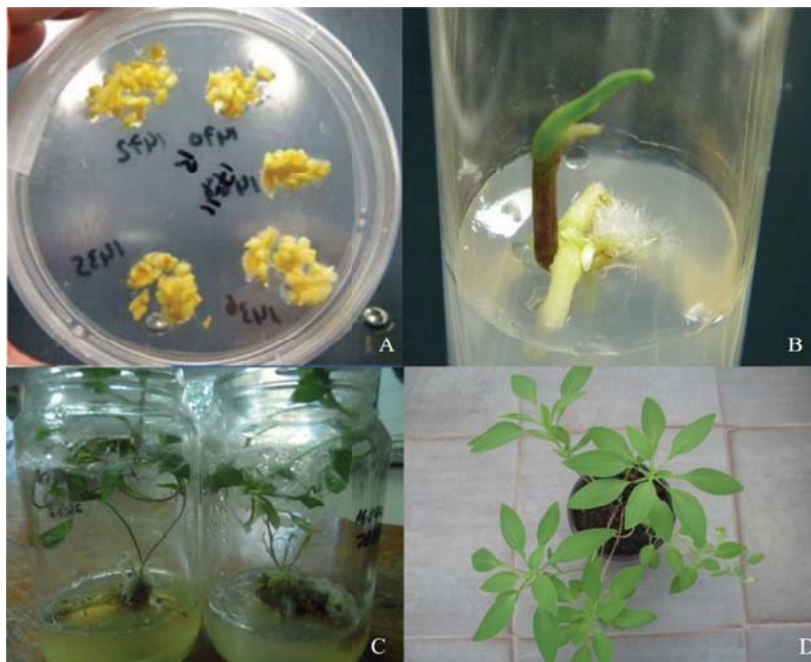


Figura 3: Rescate de embriones en “Belvedere” × *Alstroemeria psittacina*. A. Óvulos cultivados *in vitro*, B. Plántula a los 112 días, C. Desarrollo de planta a los 227 días, D. Planta aclimatada a los 364 días.

Figure 3: Rescue of embryos in “Belvedere” × *Alstroemeria psittacina*. A. Ovules cultured *in vitro*, B. Seed- ling at 112 days, C. Plant development at 227 days, D. Plant acclimatized at 364 days.

Es interesante mencionar que las variedades que presentaron la menor viabilidad de polen como “Fuego”, “Orange Queen” y “Sacha” no tuvieron la capacidad de producir plántulas con el protocolo evaluado para el rescate *in vitro*. Esto podría indicar, no sólo la presencia de desbalances genéticos en las variedades al momento de formar gametas que podrían deberse a distintos niveles de ploidía, sino que también esta-

rían mostrando conflictos en la interacción entre los genes nucleares involucrados y/o núcleo-citoplasmáticos (Rebening *et al.*, 2015; Tiffin *et al.*, 2001).

Este estudio exploratorio sobre la compatibilidad de *A. psittacina* con variedades comerciales de *Alstroemeria* para mejoramiento genético en Argentina permitió identificar los cruzamientos que producen mayor cantidad de híbridos.



Figura 4: Híbridos de *Alstroemeria* obtenidos a partir de rescate de embriones *in vitro*. A. “Belvedere”, B. y C. híbridos de “Belvedere” × *A. psittacina*, D. “Costa Azul”, E. y F. híbridos de “Costa Azul” × *A. psittacina*, G. “Virginia”, H. e I. híbridos “Virginia” × *A. psittacina*

Figure 4: *Alstroemeria* hybrids obtained through embryo rescue. A. “Belvedere”, B. and C. “Belvedere” × *A. psittacina* hybrids, D. “Costa Azul”, E. and F. “Costa Azul” × *A. psittacina* hybrids, G. “Virginia”, H. and I. “Virginia” × *A. psittacina* hybrids.

Algunos híbridos que florecieron hasta el momento se presentan en la Fig. 4. Las características morfológicas de las flores, forma de los tépalos y colores, difirieron respecto a los parentales. La confirmación de su naturaleza híbrida y la caracterización morfo-agronómica permitirán seleccionar genotipos noveles para el registro de variedades argentinas de *Alstroemeria*.

CONCLUSIONES

La obtención de híbridos entre variedades comerciales y *A. psittacina* fue posible. Los resultados obtenidos permitirán el avance en el plan de mejoramiento de *Alstroemeria* para la obtención de variedades argentinas.

REFERENCIAS

- Alexander M P. 1969. Differential Staining of Aborted and Nonaborted Pollen. *Stain Tech.* 44:117-122.
- Aros D, Meneses C, Infante R. 2006. Genetic diversity of wild species and cultivated varieties of alstroemeria estimated thorough morphological descriptors and RAPD markers. *Sci. Hort.* 86-90.
- Assis M C. 2003. Duas novas espécies de *Alstroemeria* L. *Alstroemeriaceae* para o Brasil. *Acta Bot. Bras.* 17:179-182.
- Baak E, Melo M C, Rieseberg L H, Ortiz Barrientos D. 2015. The origin of reproductive isolation in plants. *New Phyt.* 207: 968-984.
- Buitendijk J H, Ramana M S, Jacobsen E. 1992. Micropropagation ability: towards a selection criterion in *Alstroemeria* breeding. *Acta Hort.* 325:493-498.
- Buitendijk J H, Pinsonneaux N, Donk A C van, Ramanna M S, Lammeren A A M van. 1995. Embryo rescue by half-ovule culture for the production of interspecific hybrids in *Alstroemeria*. *Scientia Hort.* 64:65-75.
- Cooperativa Argentina de Floricultores Ltda. 2015. Registros de Ingreso al Mercado.
- Cubero J I. 2003. Introducción a la mejora genética vegetal. 2ª edición. Ediciones Mundi-prensa 1-567.
- De Jeu M J, Calderé F G. 1997. Retarded embryo growth and early degeneration of sporophytic tissue are associated with embryo abortion in the interspecific cross *Alstroemeria pelegrina* x *Alstroemeria aurea*. *Can. J. Bot.* 75: 916-924.
- De Jeu M, Sasbrink H, Garriga Calderé F, Piket J. 1992. Sexual reproduction biology of *Alstroemeria*. *Acta Hort.* 325:571-576.
- De Jeu M J, Jacobsen E. 1995. Early postfertilization ovule culture in *Alstroemeria* L. and barriers to interspecific hybridization. *Euphytica* 86:15-23.
- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini M G, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. 2011. InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.
- Han T, De Jeu M, Van Eck H, Jacobsen E. 2000. Genetic diversity of Chilean and Brazilian *Alstroemeria* species assessed by AFLP analysis. *Heredity* 84: (564- 569).
- Hoshino Y. 2008. Advances in Alstroemeria Biotechnology. *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology: Advances and Topical Issues* 5: 540-547. ISBN: 978-4-903313-12-2
- Ishikawa T, Takayama T, Ishizaka H, Ishikawa K, Mii M. 2001. Production of interspecific hybrids between *Alstroemeria pelegrina* L. var. *rosea* and *A. magenta* Bayer by ovule culture. *Euphytica* 118: 19-27.

- Lu C, Bridgen M P. 1996. Effects of genotype, culture medium and embryo developmental stage on the in vitro responses from ovule cultures of interspecific hybrids of *Alstroemeria*. *Plant Sci.* 116: 205–212.
- Martin F W. 1959. Staining and Observing Pollen Tubes in the Style by Means of Fluorescence. *Biotech. and Histochem.* 34:125–128.
- Murashige T, Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Phys. Pl.* 15: 473–497.
- Pakoca C. 2015. Bases para un programa de mejoramiento genético en *Alstroemeria*. Tesis presentada para optar por el título de Magister en Floricultura. Universidad de Lomas de Zamora.
- Payán F R, Martin, F W. 1975. Barriers to the hybridization of *Passiflora* species. *Euphytica* 24: 7
- Reberning CA, Lafon-Placette C, Hatorangan MR, Slotte T, Köhler C. 2015. Non-reciprocal interspecies hybridization barriers in the *Capsella* genus are established in the endosperm. *PLoS Genetics* 11(6): e1005295.09-716.
- Sanso A M. 1996. El género *Alstroemeria* (*Alstroemeriaceae*) en Argentina. *Darwiniana* 34: 349-382.
- Sanso A M, Camargo de Assis M, Xifreda C C. 2005. *Alstroemeria*: A Charming Genus. *Acta Hort.* 683: 63-77
- Shivanna K R. 2005. Barriers to hybridization. En: Shivanna, K R, y Sawhney V K eds. *Pollen Biotechnology and Crop Production and Improvement*. Cambridge: Cambridge University Press. 261-272.
- Tiffin P, Olson MS, Moyle LC. 2001. Asymmetrical crossing barriers in angiosperms. *Proc. R. Soc. Lond.* 268: 861-867.
- Tombolato A F C, Burchi G, Mercuri A, Bianchini C, Schiva T. 1993. Interspecific crosses on *Alstroemeria*. *Proc. XVII Eucarpia Symp.* 301–307.
- Tsuchiya T, Hang A. 1987. Chromosome studies in genus *Alstroemeria*. *Acta Hort.* 205: 281-287.
- van Tuyl J M. 1997. Interspecific hybridization of flower bulbs: a review. *Acta Hort.* 430: 465-476.
- van Tuyl J M, De Jeu M J. 2005. Methods for overcoming interspecific crossing barriers. En: Shivanna, K R y Sawhney V K eds. *Pollen Biotechnology and Crop Production and Improvement*. Cambridge: Cambridge University Press, 273-292.
- Villanova I, Brieva S S, Ceverio R. 2013. Producción y comercialización de flores de corte del AMBA. *Estudios Socioeconómicos de los Sistemas Agroalimentarios y Agroindustriales* N°13, 45 pp.