



EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE SEMILLAS DE UCHUVA (*Physalis peruviana* L.)

EVALUATION OF TWO METHODOLOGIES IN CAPE GOOSEBERRY (*Physalis peruviana* L.) SEED EXTRACTION

Luz Fanny Orozco Orozco¹

Ofelia Trillos González²

José Miguel Cotes Torres²

Fecha de recepción: 12 de marzo de 2010

Fecha de aceptación: 1 de junio de 2010

¹ Estudiante de Ingeniería Agronómica. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, e-mail: lforozco@unalmed.edu.co

² Departamento de Ciencias Agronómicas. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, e-mail: otrillos@unalmed.edu.co, jmcotes@unalmed.edu.co

RESUMEN

En este estudio se trabajó con semillas de *Physalis peruviana* L., obtenidas a partir de frutos maduros de polinización libre, provenientes de 10 accesiones utilizadas en el programa de mejoramiento genético desarrollado por el grupo de Mejoramiento de Frutales Andinos y Tropicales (COLCIENCIAS). El objetivo fue comparar el método de extracción de semillas tradicional (por fermentación de pulpa con las semillas) con el método de extracción directa, en cuanto a su efecto en la viabilidad de las semillas y presencia de patógenos una vez estas son almacenadas bajo condiciones de laboratorio. Para evaluar la viabilidad se utilizó un método directo (prueba de germinación) y un método indirecto (prueba con tetrazolio) y para el almacenamiento se evaluó la presencia de patógenos en la semilla. Con esta investigación se logró adaptar el protocolo de la prueba con tetrazolio para uchuva. Los resultados de las pruebas de germinación encontrados permiten establecer que el porcentaje de semillas que emergen conforme las semillas envejecen y los resultados de la prueba de tetrazolio muestran que casi todas las semillas se mantienen viables en todas las evaluaciones; lo cual permite concluir que posiblemente las semillas de uchuva entran en período de latencia o de pérdida de vigor; no se observó la presencia de patógenos en ninguna de las evaluaciones, ni en los cuatro meses posteriores a la realización de estas. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, por esta razón se recomienda la implementación de la extracción directa ya que resulta ser un método más sencillo y rápido que el de fermentación de los frutos de uchuva.

Palabras clave: *Physalis peruviana* L., germinación, tetrazolio, almacenamiento de semillas, mejoramiento genético

ABSTRACT

In this research we use *Physalis peruviana* L. seeds obtained from mature open pollination fruits, originated from 10 accessions used in the plant breeding program supported by the Research Group of Plant Breeding in Andean and Tropical Fruits Trees (COLCIENCIAS). This research was carried out to compare the traditional method for seed extraction (by fruit fermentation) with the direct method, in its effect on the seeds viability and presence of pathogens once these are stored under laboratory conditions. In order to evaluate the viability a direct method (test of germination) and an indirect method (test with tetrazolium) was used. For the storage, the presence of pathogens in the seed was evaluated. During this research, we adapted the tetrazolium test protocol for cape gooseberry. The test of germination allow to establish that the emerge seeds percentage is smaller trough the time and the tetrazolium test shows that almost all the seeds stay viable in all the evaluations; which allows us conclude that it is possible to say that cape gooseberry seeds could be in a latency period or lose the vigor. In addition not pathogens were observed in any of the evaluations, and neither during the four later months of storage. There were not significant differences between the treatments, therefore the implementation of the direct extraction is recommended since it turns out to be a simpler and fast method than the one of fermentation of the cape gooseberry fruits.

Key words: *Physalis peruviana* L., germination, tetrazolium, storage of seeds, plant breeding.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, Colombia es el mayor productor y exportador de uchuva del mundo, debido a la exquisita calidad de los frutos; esto le ha permitido ubicarse por encima de Sudáfrica, Kenia, Zimbabwe y varios países americanos que también son productores de la fruta (Alvarado *et al.* 2004).

La uchuva pertenece al grupo de las frutas tropicales y goza de un alto posicionamiento, caracterizado por el consumo elitista y la distribución en puntos de venta de frutas exóticas exclusivas, en hoteles y restaurantes. Comparando a la uchuva sudafricana y europea, la cultivada en Colombia es más dulce, de tamaño más grande y color atractivo, lo que representa una oportunidad de promoción y diferenciación para el producto colombiano (Ciro *et al.* 2007).

En Colombia los estudios de propagación con respecto a esta planta son poco conocidos; *P. peruviana* se propaga de manera sexual por semilla genética y asexualmente. Según García (2003), la forma de propagación más utilizada es la asexual, la cual involucra diferentes métodos y partes de la planta, siendo la más importante la propagación por esquejes; por otro lado López y colaboradores (2008) manifiestan que la reproducción por semilla sexual presenta buenos porcentajes de germinación (85–90%); sin embargo, las plantas propagadas por este método varían en crecimiento, vigor, rendimiento y calidad del

fruto. Los frutos que se emplean para la extracción de semillas, deben ser de buen tamaño y completamente maduros; cosechados de plantas sanas, vigorosas y en plena producción (Almanza, 2000).

Las semillas presentan el más alto nivel de calidad al momento de la madurez fisiológica, sin embargo, esa calidad declina gradualmente como consecuencia del proceso de envejecimiento, el cual acarrea una serie de transformaciones degenerativas de origen bioquímico, fisiológico y físicos que están asociados a la pérdida del vigor (García *et al.* 1993). Algunos de los efectos deletéreos están asociados con daños en la membrana, cambios en los niveles de ácidos nucleicos y proteínas. La peroxidación de ácidos grasos insaturados es la principal razón de pérdida de la viabilidad de la semilla, debido a la reducción de antioxidantes (Rao *et al.* 2006).

El progreso del deterioro depende del ambiente en que se almacenen las semillas y aunque es inevitable parar las tasas de envejecimiento, es posible reducir su ritmo dotando a la semilla de un ambiente adecuado de almacenamiento (Nichols y Bruce, 1999).

La viabilidad de una semilla se considerada como el período de tiempo en el cual una semilla puede dar origen a una nueva planta con las características de la planta madre (Muasya *et al.* 2002).

Existen diversas técnicas para la determinación de la viabilidad de una semilla, estas son de tipo directo e indirecto. La de tipo directo más usual, es la prueba de germinación; de acuerdo con las normas internacionales de la ISTA (*International Seed Testing Association*) en un ensayo de laboratorio se entiende

por germinación “la emergencia y desarrollo a partir del embrión de una planta normal, bajo condiciones favorables en el suelo”. Sin embargo hay autores que consideran que es suficiente con la aparición de la radícula para considerar la semilla como germinada (Durán y Hierro, 1993; Correa, 2002).

Entre las pruebas de tipo indirecto, están los métodos bioquímicos (basados en tinciones indicativas de vitalidad, producto de la actividad enzimática), métodos físicos y por último métodos químicos (Hoyos *et al*, 2008). Los ensayos bioquímicos para estimar la viabilidad de semillas se basan en la utilización de sal de tetrazolio o TZ (2, 3, 5 – trifetil cloreto de tetrazólio), que muestra la presencia de los procesos de oxidación- reducción y ha sido bien establecido que el desarrollo de color rojo no difusivo, en el tejido es el resultado de la reducción del reactivo por la acción enzimática (Añes *et al*. 2007).

Las enzimas deshidrogenasas están relacionadas con la actividad respiratoria de los sistemas biológicos; durante el proceso respiratorio se producen intermediarios que sirven como sustrato a las enzimas. La solución de TZ penetra en los tejidos de la semilla y en los procesos de reducción de las células vivas toma el hidrógeno liberado por las deshidrogenadas, lo cual lleva a que se reduzca a una forma insoluble y colorida (roja) (Añes *et al*, 2007; Delouche *et al*, 1971).

Debido a que la reacción ocurre dentro de las células y el pigmento no es difusivo, existe una delineación perfectamente nítida entre el tejido que respira (viable) y el que no respira (no viable). El primero adquiere un color característico (rojo), mientras que

el segundo mantiene su color natural aunque pueden aparecer semillas parcialmente coloreadas, por lo que es necesario establecer diferentes grados de tinción en regiones esenciales de la semilla y relacionarlo con la presencia o ausencia de germinación (Añes *et al*, 2007, Victoria *et al*, 2006).

En cuanto los métodos de extracción de semillas en solanáceas se han adelantado estudios en papa (Torres y Olivas, 1993), lulo (Lobo, 1988), tomate (Lobo, 1987) y uchuva. En esta última especie Zapata y colaboradores (2002), colocaron en un recipiente plástico las bayas, las cuales fueron sometidas a un proceso de fermentación por un período de 24 a 72 hr, con el fin de buscar una germinación eficiente. Posteriormente lavaron con abundante agua, secaron a la sombra sobre un papel absorbente, una vez estuvieron secas, se almacenaron por ocho días, para luego sembrarlas en un semillero con suelo desinfectado.

Dentro de los programas de mejoramiento genético de *P. peruviana* desarrollados hasta el momento la extracción de semillas se hace fermentando los frutos y después se procede a lavar y a limpiar los residuos tanto de pulpa como de hongos saprofitos que se presentan durante el proceso. No se ha establecido si se hace necesario fermentar para que se inhiban procesos de latencia o dormancia de las semillas o si descomponer el mucílago que la rodea es importante para la conservación de la semilla, inhibiendo así la presencia de patógenos durante el almacenamiento.

En el presente estudio se evaluaron dos métodos de extracción de semillas, (extracción directa y fermentando los frutos para después sacar las semillas) y se estudio bajo

condiciones controladas de almacenamiento la viabilidad de la semilla y la presencia de organismos descomponedores.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Para realizar este ensayo se tomaron frutos maduros de polinización libre provenientes de 10 accesiones de uchuva (*Physalis peruviana* L.) que se emplean en el programa de mejoramiento genético desarrollado por el grupo de Mejoramiento de Frutales Andinos y Tropicales. El bloque de

inmediatamente cosechado el fruto. 2). extracción de las semillas después de una semana de fermentación.

Para el primera forma de extracción se tomaron los frutos, se frotaron suavemente y finalmente se colocó una presión adecuada en el mismo que permitiera que este se rompiera y produjera la salida de las semillas; estas se hicieron pasar por un tamiz de 2mm de diámetro y con la ayuda de agua se limpiaron de manera tal que no quedaran embebidas en pulpa para evitar de esta manera la llegada de organismos descomponedores de azúcares.

Las enzimas deshidrogenasas están relacionadas con la actividad respiratoria de los sistemas biológicos; durante el proceso respiratorio se producen intermediarios que sirven como sustrato a las enzimas. La solución de TZ penetra en los tejidos de la semilla y en los procesos de reducción de las células vivas toma el hidrógeno liberado por las deshidrogenadas, lo cual lleva a que se reduzca a una forma insoluble y colorida

cruzamiento se encuentra en la finca Paysandú, de la Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, ubicada en Santa Elena, corregimiento de Medellín. De cada accesión se tomaron aproximadamente 40 frutos que se dividieron en dos partes, para emplear cada una de ellas en un tratamiento.

Tratamientos

Se evaluaron dos métodos de extracción de semillas: 1). extracción de las semillas

Una vez la semilla estaba libre de cualquier resto de pulpa, con la ayuda de una cuchara se colocaban en bolsas de papel, las cuales absorbían el exceso de agua de las semillas y se dejaron secar a temperatura ambiente (más o menos 16°C), teniendo en cuenta que el embrión no puede estar expuesto a la radiación directa ya que esto le puede producir la muerte; finalmente se colocaron en bolsas plásticas donde se almacenaron debidamente selladas.

Para el segundo método de extracción se tomaron los frutos se maceraron y se colocaron en vasos desechables con aproximadamente 60 ml de agua destilada que permitiera cubrir el macerado del fruto; bajo estas condiciones y con una temperatura promedio de 16°C se dejó durante una semana, tiempo en el cual la solución se tornó turbia debido a la presencia de hongos saprofitos que descomponen los azúcares que se encuentran en la pulpa. Después de transcurrido este tiempo con la ayuda de una cuchara se retiraron los hongos y posteriormente se hizo pasar el resto de la solución por un tamiz de 2 mm de diámetro en el cual sólo queda la semilla; una vez limpias se colocaron en bolsas de papel hasta que se secaron a temperatura ambiente y finalmente se colocaron en bolsas plásticas.

Puesta a punto del test de Tetrazolio para *Physoalis peruviana* L.

Se tomaron las semillas frescas de uchuva extraídas por cada uno de los métodos (descritos en la metodología) y se evaluaron en los siguientes tratamientos: 1) las semillas se embebieron en agua durante 8 horas y posteriormente se les dio el tratamiento con TZ. 2) semillas con un corte longitudinal y posteriormente se les colocó en la solución indicadora y 3) Testigo que consistió en semillas que se colocaron directamente en la solución de TZ. Para cada tratamiento se realizaron dos repeticiones, empleando 50 semillas por cada repetición; para un total de 150 semillas.

El tratamiento 1 del ensayo fue diseñado teniendo en cuenta las apreciaciones de Duran y Hierro (1993), quienes proponen que

en algunos casos es necesario humedecer previamente las semillas para facilitar la penetración de la solución TZ; el tratamiento 2 se planteó teniendo en cuenta lo establecido por la RIES (1974) quienes mencionan que a los tratamientos para evaluar la viabilidad de semilla se pueden exponer semilla o embriones. Para nuestro caso lo ideal habría sido exponer los embriones pero no fue posible debido a que la testa era muy dura lo que impedía retirarla manualmente y debido al tamaño pequeño semilla se hizo muy difícil su manipulación para retirar la testa. Así se optó por hacer un corte longitudinal y no la exposición completa del embrión.

Evaluaciones

Para cada uno de los tratamientos se hicieron cuatro (4) evaluaciones, en las semanas 1, 2, 5 y 9 después de la extracción de las semillas; en cada una se realizaron tres tipos de pruebas. 1) pruebas de viabilidad directa por germinación. 2) pruebas de viabilidad indirecta usando tetrazolio. 3) observaciones de contaminación debido a la acción de microorganismos o contaminación debido a la acción de patógenos.

Para las pruebas directas de viabilidad por germinación para cada evaluación se tomaron 100 semillas por cada accesión, estas semillas se colocaron en platos con suelo y se les colocó agua diariamente hasta el día en el que se hacían los conteos para estimar el número de semillas que habían emergido, estos conteos se realizaron un mes después de la siembra de las semillas, pues aunque la mayoría de las estas emergían después de 15 días de la plantación, se optó por hacer estos conteos al mes

para dar un período de espera para la emergencia de semillas que quedaban un poco profundas y que se tardan más para emerger. Esta prueba se llevó a cabo en los invernaderos del Laboratorio de Suelos de la Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín.

Para la prueba de evaluación indirecta de la viabilidad se tomaron 50 semillas frescas de uchuva (*Physalis peruviana* L.) por cada accesión, a las cuales se les realizó un corte de tal manera que se permitiera el contacto del tejido vivo con la solución indicadora.

La solución indicadora se preparó siguiendo el protocolo referenciado en las Reglas Internacionales para los Ensayos de Semillas (RIES 1974); así: se tomaron 2,5 g de Tetrazol TZ (cloruro de 2, 3, 5 trifenil tetrazol) en 250 mL de solución búfer para lograr una concentración del 1%. La solución buffer se preparó de la siguiente manera: Por cada 100 mL de agua destilada, se utilizaron 0,9078 g de KH_2PO_4 (solución 1) y 0,9472 g de Na_2HPO_4 (solución 2). Posteriormente se mezclaron dos partes de la solución 1, es decir 100 mL, con tres partes de la solución 2, es decir 150 mL. La solución se almacenó en un envase ámbar y se mantuvo en un lugar fresco.

Las semillas se colocaron en tubos *ependorf* en la solución TZ de tal manera que esta cubriera las semillas y se llevaron a un horno en el cual se le garantizó las condiciones de temperatura (30°C) y de oscuridad que requiere la prueba; allí se dejó durante cuatro horas; transcurrido este tiempo se sacaron del horno, se lavaron, se colocaron en agua pura y se dejaron en agua hasta el momento en el que se procedía a hacer las lecturas de viabilidad.

Con el fin de contrastar y asegurar de que la prueba se estuviera haciendo de forma adecuada y que el material que se estaba evaluando si estaba vivo, se tomó una muestra de 100 semillas se les realizó el corte y se colocaron a hervir en agua (a 100° C) durante cinco minutos, con el fin de producirle la muerte a las semillas; transcurrido este tiempo se les quitó el exceso de agua, se secaron con una toalla, se colocaron en un tubo *ependorf* en la solución de TZ y se les dio el mismo tratamiento que a las semillas vivas. Esta prueba se llevo a cabo en el Laboratorio de Biología Molecular ubicado en los predios de la Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín.

Para la prueba de contaminación debido a la acción de microorganismos, se tomaron 100 semillas de cada una de las accesiones, procedentes de cada uno de los métodos de extracción y se colocaron en bolsas plásticas con un buen sistema de sellado. Estas semillas se colocaron en una bandeja y bajo las condiciones ambientales del Laboratorio de Biología Molecular con una temperatura media de 18°C y en las fechas establecidas para las evaluaciones se tomaron cada una de las bolsas y se evaluó la presencia de microorganismos o agentes extraños con la ayuda del estereoscopio.

Diseño experimental y análisis estadístico

Para el análisis de los datos se hizo un diseño en bloques completos al azar con submuestras; donde la unidad experimental eran 100 semillas para el caso de germinación, 50 para la prueba de tetrazolio y 100 para la evaluación de contaminación por patógenos. La unidad de submuestreo fueron

las observaciones realizadas a la semilla sobre la variable germinación; tinción o ataque por patógenos, siendo todas estas variables de distribución binomial.

Para el análisis de los datos se empleó un modelo lineal generalizado, utilizando para ello la función de ligamento *logit* y programado mediante el procedimiento GLIMMIX de SAS System versión 9. 1. 3 (SAS, 2006).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Germinación

Entre un 70 y 80% del total de semilla germinadas emergieron antes de 15 días después de la plantación; algunos de los factores que influyeron en retrasar este proceso fue la profundidad de siembra (> 1 cm) a la que quedaban estas una vez colocadas en el suelo, lo que hizo que la semilla se demorara más tiempo para salir a la superficie. Un resultado similar es reportado por Fischer y Almanza (1993), quienes afirman que la germinación tarda de 10 a 15 días y que se ha observado que los ecotipos de Colombia germinan más tarde que los originarios de Kenia.

El análisis de varianza realizado para la evaluación de la viabilidad directa (germinación) mostró que no existen diferencias significativas entre los tratamientos ($P=0.0878$), y no hubo diferencias significativas entre las accesiones ($P=0.4923$); pero si hay diferencias estadísticamente significativas entre evaluaciones ($P<.0001$) y para la interacción evaluación por tratamiento ($P<.0001$) por lo tanto la germinación de las semilla extraídas mediante cada uno de los métodos cambia conforme se hacen las evaluaciones en el tiempo.

De esta manera se puede establecer que el porcentaje de germinación de las semillas de *P. peruviana* L. pierden un poco de su potencial de germinación en la medida en que se hacen evaluaciones a mayor tiempo de almacenamiento. Así en la primera semanas de evaluación las semillas de la uchuva alcanzan su máximo porcentaje de germinación para el método de extracción directa, pero en la última semana de evaluación (dos meses

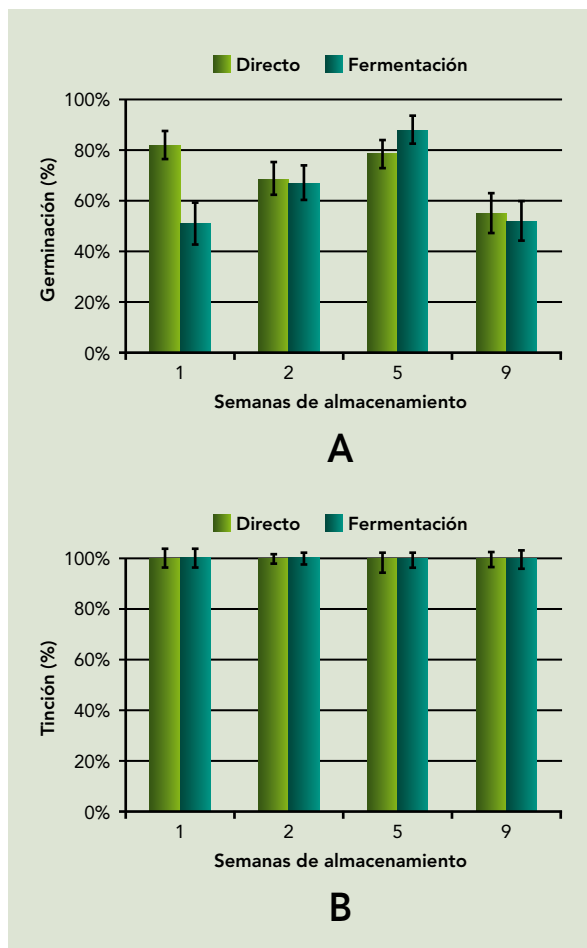


Figura 1. Porcentaje estimado e intervalo de confianza al 95% para la viabilidad de semillas de *P. peruviana* L. en dos métodos de extracción de semilla directo (T1) y con fermentación (T2): A) Prueba de germinación, B) Prueba por tinción con tetrazolio.

después de la extracción) es menor el número de semillas que alcanzan a germinar, sin presentarse diferencias significativas ($P>0.05$) entre los dos tratamientos (A).

Se podría decir que este fenómeno está asociado con el proceso natural de envejecimiento y deterioro fisiológico de la semilla; esta idea es reforzada por García *et al*, (1993), quienes establecieron que el deterioro de la semilla inicia una vez estas alcanzan su madurez y continua hasta que todos sus tejidos mueren. Sin embargo en la prueba de viabilidad indirecta se observó casi un 100% de semillas viables en ambos tratamiento (B) lo que implica que es posible que durante este corto período de almacenamiento la semilla entre en un proceso de latencia. Según Fernández (2004), la latencia se definen como la condición de una semilla que no puede germinar aun cuando disponga de una amplia humedad externa; esté expuesta a condiciones atmosféricas típicas propias de suelos bien aireados o en la superficie de la tierra; y la temperatura esté dentro del rango comúnmente asociado con la actividad fisiológica.

Cuando se aumente la temperatura y la humedad relativa en almacenamiento se reduce el vigor de las semillas; Gómez (2004) en semillas de diomate (*Astronium graveolens* Jacq), encontró que cuando las éstas se almacenan con bajos contenidos de humedad (8%) y en condiciones de temperatura igual a la ambiental (12 y 18°C), los simientes tardan mas en perder vigor; más no existe un rango de temperatura y de humedad relativa igual que me permita almacenar todas las especies, debido a que cada una tiene su rango optimo (Aramendis *et al*,2007). En este estudio es

necesario continuar desarrollando investigaciones que permitan establecer si bajo las condiciones de almacenamiento evaluadas, las semillas perdieron vigor impidiendo que pudieran desarrollarse hasta formar una plántula.

De igual manera se observó que para la primera evaluación el porcentaje de germinación fue estadísticamente diferente ($P>0.05$) cuando se hace las extracciones de semilla de forma directa que cuando se dejan fermentar los frutos y posteriormente se hace la extracción de las semillas. Esto nos permite inferir que la fermentación afectan la germinación de las semillas inmediatamente estas son extraídas, pero que sus porcentajes de germinación tienden a estabilizarse en las demás evaluaciones y no alcanza a ser estadísticamente diferente al tratamiento de extracción directa de las semillas.

Sin embargo, para garantizar que las semillas que se tengan para realizar las pruebas de viabilidad directa (germinación) sean las mas apropiadas es recomendable que los frutos que se tomen estén bien maduros, lo que podría asociarse con frutos que presenten coloraciones entre amarillos y amarillo-anaranjados o frutos en estadio 5 de maduración o cercano a esta coloración según la tabla de color de uchuva diseñada por CENICAFE (2001).

Esta apreciación sobre la importancia de la madurez del fruto, es reportada por Criollo y Upegui (2005); estos autores en sus estudios establecieron que después de los 75 días de pasada la antesis, las semillas uchuva alcanzan un aceptable nivel de madurez fisiológica, que les permiten alcanzar un porcentaje de germinación cercano al 80.0%, pero que es a los 90 días después de esta etapa donde se presenta

el más alto número de semillas germinadas con un 89%; es en este momento donde las semillas de *P. peruviana* L. han alcanzado su madurez física y fisiológica lo que les confiere una buena capacidad de germinación y una máxima expresión del vigor de la plántula.

Esta idea es reforzada por Lobo (1987), quien en sus estudios sobre cómo el estado de desarrollo de las bayas tomate influyen en el vigor y germinación de las semillas; encontró, que el mayor vigor y las más altas tasas

semilla, en todas las evaluaciones se encontró que el número de semillas que teñían era cercano al 100%, este mismo comportamiento se observó para el tratamiento donde se realizó la fermentación del fruto (B).

Estos resultados indican que bajo este tratamiento, se puede observar que casi todas las semillas de *P. peruviana* L. son viables según la prueba de tetrazolio. Aunque estos resultados son muy satisfactorios y se puede decir que bajo condiciones controladas de laboratorio

En las semillas que resultaron no viables no se observó la presencia de coloraciones rojizas y se conservaba la testa de color crema lo que permite establecer que en la mayoría de los casos estas semillas no contaban con la presencia de tejidos embrionarios o lo que podría asociarse con semillas vanas.

de germinación de las semillas de esta especie se logran cuando los frutos están lo suficientemente rojos, lo cual concuerda con la madurez fisiológica de la semilla.

Viabilidad

Los resultados de las pruebas de viabilidad muestran que no hay diferencias significativas entre cada una de las accesiones ($P=0.6528$), ni entre las evaluaciones ($P=0.3084$), ni entre los tratamientos ($P=0.8386$), y tampoco entre la interacción evaluación por tratamiento ($P=0.6005$). Así, para extracción directa de la

semilla de *P. peruviana* L. tienen una excelente viabilidad; es necesario cuantificar su comportamiento y desarrollo bajo condiciones de campo, lo cual está relacionado con el vigor de la semilla (Nichols y Bruce, 1999).

Las pruebas para establecer la metodología para adaptar el test TZ a semillas de uchuva muestran que, cuando se humedecen las semillas o cuando se aplica tetrazolio a las semillas directamente no se presentó ninguna tinción, mientras que para el tratamiento en el que se realiza un corte transversal si se pudo visualizar la viabilidad de las semillas de *P. peruviana* L.

Esto se debe a que posiblemente la testa de las semillas de uchuva es muy dura y por tanto no se permite la entrada de agua con la solución al tejido vivo, lo cual coincide con lo establecido por Criollo y Upegui (2005); quienes afirman que las semillas de uchuva que están fisiológicamente desarrolladas tiene la testa mucho mas dura que las semillas inmaduras.

Cuando se realizaron las observaciones de cuales eran los tejidos de semilla que se teñían con la solución de TZ se pudo observar que estos pertenecían a los tejidos embrionarios los cuales se tiñeron de color rojo y la testa permaneció de color crema (Figura 3A) y coincide con la descripción de la semilla de *P. peruviana* L. realizada por Criollo y Upegui (2005); quienes afirman que al realizar un corte transversal a las semillas de uchuva se puede observar una testa que se diferencia del embrión por su coloración crema, en contraste con los tejidos embrionarios que son blancos y de apariencia translúcida.

En las semillas que resultaron no viables no se observó la presencia de coloraciones rojizas y se conservaba la testa de color crema lo que permite establecer que en la mayoría de los casos estas semillas no contaban con la presencia de tejidos embrionarios o lo que podría asociarse con semillas vanas.

Aunque este estudio permitió diferenciar entre semillas vivas y muertas se hace necesario que en estudios posteriores se evalúen aspectos como la intensidad del color del cual se tiñen los tejidos y el área del embrión coloreadas; pues según Duran y Hierro (1993), a mayor área teñida mayor es la cantidad de tejido vivo, los cuales tienen una mayor actividad redox. Además se hace necesario establecer los

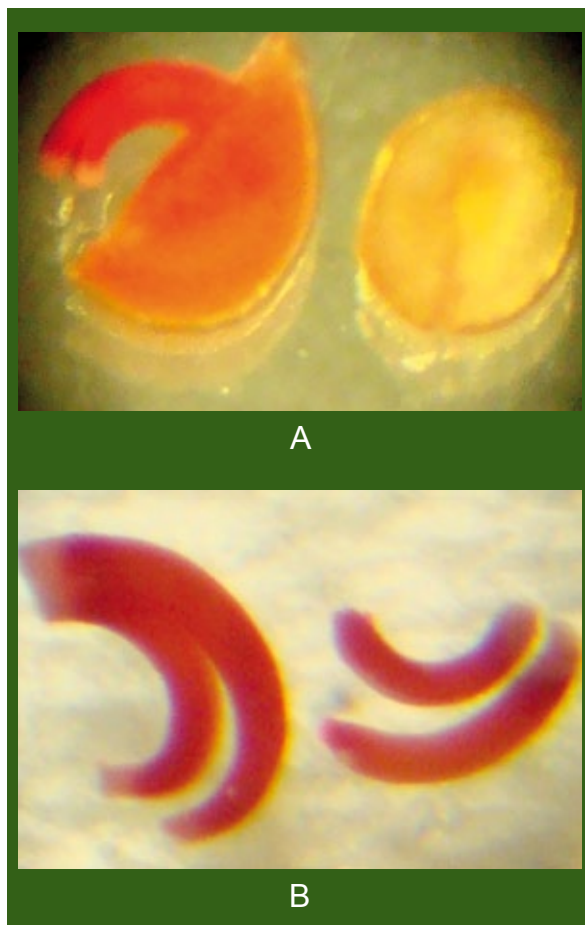


Figura 2. Fotografía al estereoscopio de la semilla de *P. peruviana* L. después de ser sometidas al tratamiento con TZ. A) A la izquierda material viable; a la derecha material inviable, B) Estructuras viables de la plántula 8 horas después de la aplicación del tratamiento con TZ.

grados de tinción en regiones esenciales de la semilla como son la radícula, la plúmula, el eje embrionario y los cotiledones entre otros y correlacionarlos con la presencia o ausencia de germinación (Victoria et al, 2006).

Bajo las condiciones del laboratorio se observó que si la semilla de *P. peruviana* L. se deja durante mas de 8 h en la solución de TZ o en agua durante aproximadamente 4 h posterior al tratamiento para hallar su viabilidad se puede

observar la emergencia de la plúmula de la plántula, ya que se observan los primordios de hoja (Figura 3B); en muchas de las semilla se observa este comportamiento, por lo que resultaría interesante correlacionar este resultado con plántulas germinadas en condiciones de campo.

Presencia de patógenos

Durante el tiempo correspondiente al ensayo y los cuatro meses posteriores a esté no se observó la presencia de patógenos en las semillas; lo que hace pensar que para un almacenamiento adecuado es suficiente con mantenerlas bajo condiciones óptimas de humedad y que es esencial un correcto y adecuado tratamiento de lavado el cual se debe llevar a cabo bajo unas normas estrictas de limpieza.

Vale la pena destacar este resultado porque previamente se pensaba que el la extracción directa de la semilla podría hacer que hubiera una mayor incidencia de patógenos en almacenamiento debido a que en este tipo de extracción podría quedar algo de mucílago adherido a la semilla, lo cual no ocurriría con el tratamiento de fermentación donde este mucílago sería degradado antes del almacenamiento.

Por otro lado, Criollo y Upegui (2005); establecieron que cuando las semillas se almacenan en condiciones de humedad relativa baja (40 a 50 %), poca luz y una temperatura de 10 a 13 °C; éstas conservan su poder germinativo durante 6 a 7 años.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados anteriormente mostrados sobre viabilidad de las semillas de *P. peruviana* tanto de forma directa (prueba de germinación),

como de forma indirecta (prueba con tetrazolio) permiten establecer que, aunque no hay diferencias significativas entre tratamientos; es justamente por esta razón que se recomienda usar el tratamiento de extracción directa de las semillas, pues es un método más sencillo y rápido que el de fermentación.

Si bien el método de extracción directa de semillas de uchuva puede ser una estrategia que se aplique para la obtención de semillas de *P. peruviana* L a nivel industrial, resultar especialmente útil dentro de los programas de mejoramiento y en los bancos de germoplasma donde se requiere la extracción de las semillas de cada fruto de manera individual o a un número de frutos no muy alto.

Aunque bajo condiciones de almacenamiento de este estudio no se encontró la presencia de patógenos en las semilla de *P. peruviana* L.; se hace necesario que en futuras investigaciones más detalladas donde se estudie cuáles son las condiciones óptimas de almacenamiento que llevan a una mejor conservación de la semilla.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su gratitud a la Universidad Nacional de Colombia Sede de Medellín y al Departamento de Investigaciones de Medellín (DIME) que aportaron los recursos físicos, humanos, técnicos y financieros para adelantar esta investigación; a la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA), que aportó los recursos genéticos. Al profesor Mario Lobo Arias por su valiosa contribución en los inicios de la investigación. Al Laboratorio

de Estudios Moleculares adscrito al Departamento de Ciencias Agronómicas de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y al Laboratorio de Suelos adscrito a la escuela de Bio-ciencias de la Facultad de Ciencias de la

Universidad Nacional. A Nancy Yohana Grisales Vásquez y Juan Estebán Martínez Duque, estudiantes de Ingeniería Agronómica, por su valiosa colaboración en el desarrollo en campo de estos experimentos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Añez, L.M.M; Coelho, M.F.B.; Albuquerque, M.C.F.; Mendonça, E.A.F.; Dombroski, J.L.D. 2007. Padronização da metodologia do teste de tetrazólio para sementes de *Jatropha elliptica* M. Arg. (Euphorbiaceae). Revista Brasileira de Plantas Medicinais. 9 (3): 82-88. http://www.ibb.unesp.br/servicos/publicacoes/rbpm/HTML/sumarios_v9_n3_2007.htm. 02. Dic.09.
2. Almanza. M., P. J. 2000. Propagación. pp. 27 – 40. En: Producción, cosecha y exportación de uchuva (*Physalis peruviana* L.). Universidad Nacional de Colombia. Santa Fe de Bogotá, Colombia.
3. Alvarado P. A, Berdugo, C. A. y Fischer, G. 2004. Efecto del tratamiento en frío (a 1.5° C) y la humedad relativa sobre las características físico-químicas de frutos de uchuva *Physalis peruviana* L. durante el posterior transporte y almacenamiento. Revista Agronomía Colombiana. 22 (2): 142-159.
4. Aramendiz, H, Cardona, C, Jarma, A, Robles, J, Montalva, R. 2007. Efectos del almacenamiento en la calidad fisiológica de la semilla de berenjena (*Solanum melongena* L.). Agronomía colombiana. 25 (1): 104-112.
5. CENICAFÉ. 2001. Uchuva (*Physalis peruviana* L.). Tabla de color. Parte del Proyecto "Caracterización y Normalización de Frutas y Hortalizas". Desarrollado con recursos del SENA (Servicio Nacional de Aprendizaje). Chinchiná, Colombia.
6. Ciro V, H. J, Buitrago G, O. H. y Pérez A, S. A. 2007. Estudio preliminar de la resistencia mecánica a la fractura y la fuerza de firmeza para fruta de uchuva (*Physalis peruviana* L.). Revista Facultad Nacional De Agronomía Medellín. 60 (1): 3785 – 3796.
7. Correa, V, J. 2002. Fisiología de semillas y plántulas. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín.
8. Criollo E, H. y Upegui E, P. A. 2005. Determinación de la madurez fisiológica de la uvilla (*Physalis peruviana* L.). Revista de Ciencias Agrícolas. 13 (1): 71-88.
9. Delouche, J. C. Still, W., Raspet, M. y Lienhard, M. 1971. Prueba de viabilidad de semilla con tetrazol. Centro Regional de Ayuda Técnica. AID: México. pp. 71.
10. Durán, A, J. M. y Hierro, Z., J. 1993. La viabilidad de semillas y su estimación en condiciones de laboratorio. Revista Agricultura. 734: 762 – 764.
11. Fernández, V, E. 2004. Estudios de viabilidad y latencia en semillas de guanábana (*Annona muricata* L.) y chirimoya (*Annona cherimola* M.) Tesis de grado. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín.

12. Fischer, G. y Almanza, M.,; P. J. 1993. La uchuva (*Physalis peruviana* L.) una alternativa promisoría para las zonas altas de Colombia. Revista Agricultura Tropical. 30 (1).
13. García, M., M. C. 2003. Uchuva. Cosecha y poscosecha. Corporación Colombiana De Investigación Agropecuaria (Corpoica). Pp. 9 – 72
14. García, V. Herrera, J. y Alizaga, R. 1993. Efecto de la madurez de la semilla sobre la germinación y el vigor en semillas de china (*Impatiens balsamina* L.) Agronomía Costarricense. 17 (1): 81 – 87.
15. Gómez R, M. L. 2004. Estimación de la capacidad germinativa y el vigor de las semillas de diomate (*Astronium graveolens* Jacq.) sometidas a diferentes tratamientos y condiciones de almacenamiento. Revista Facultad Nacional De Agronomía Medellín. 57 (1): 2218-2232.
16. Hoyos, R. A. Cartagena, V., J. R y D'Avila, B., J. C. 2008. Manual de prácticas de laboratorio de Fisiología de la Reproducción Vegetal. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. Por publicar.
17. Lobo, A., M. 1988. Investigaciones sobre semillas de lulo (*Solanum quitoense* Lam.). Revista Semillas. 13 (4): 12 – 20.
18. Lobo, A., M. 1987. Investigaciones sobre semillas de tomate. Revista Semillas. 12 (4): 8 – 12.
19. López, A, S. 1978. Un nuevo cultivo de alta rentabilidad: la uvilla o uchuva (*Physalis peruviana* L.). Revista ESSO Agrícola. 2: 21 – 28.
20. López, A., F. Guío, T. N. R; Fischer, G y Miranda, L., D. 2008. Propagación de uchuva (*Physalis peruviana* L.) mediante diferentes tipos de esquejes y sustratos. Revista Facultad Nacional De Agronomía Medellín. 61(1), 4347-4357.
21. Muasya, R, M., Lommen, W. J. y Struik, P. C. 2002. Differences in development of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) crops and pod fractions within a crop II. Seed viability and vigour. En: Revista Field Research 75. Págs. 79 – 89. www.elsevier.com/locate/fcr. 02. Dic.09.
22. Nichols, M. A y Bruce, C., C. 1999. Características y manejo de las semillas. Revista Agricultura de las Américas. 46 (4): 8 – 17.
23. Rao, R., G.S; Singh, P.M. y Rai, Mathura. 2006. Storbility of onion seeds and effects of packaging and storage conditions on viability and vigour. En Scientia Horticulturae 110, 1– 6. http://www.bases.unal.edu.co:2053/science?_ob 02. Dic.09.
24. Reglas Internacionales para los Ensayos de Semillas (RIES). 1974. Traducción de las adaptadas en el decimoséptimo Congreso Internacional de Ensayos de semillas. Vascovia. pp. 23 – 25 y 136 – 159.
25. Victoria, T., J. A. Bonilla, C., C. R y Sánchez, O., M. 2006. Viabilidad en tetrazolio de semillas de caléndula y eneldo. Revista Acta Agronómica. 55 (1): 23 -30.
26. Torres, F. y Olivas, A. 1993. Producción de semilla sexual bajo las condiciones tropicales de Nicaragua. Revista Latinoamericana de papa. 5 (1): 1 – 19.
27. Zapata, P., J. L., Saldarriaga, C., A. Londoño, B., M. y Díaz, D., C. 2002. Manejo del cultivo de la uchuva en Colombia. Boletín Técnico N° 14. Corporación Colombiana De Investigación Agropecuaria (Corpoica). Regional cuatro. Centro de Investigación La Selva. pp. 8 – 14 y 32-38

CONSULTA VIRTUAL

28. SAS, 2006. The GLIMMIX procedure (Production June 2006). En http://www.sas.com/apps/demosdownloads/sasstatglimmix_PROD__sysdep.jsp?packageID=000353&jmpflag Consulta: Junio 2007.