



# Universidad Austral de Chile

Facultad de Ciencias Agrarias  
Escuela de Agronomía

## **Influencia de tratamientos magnéticos y químicos en presiembra en semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) sobre la ontogenia del cultivo, y su respuesta a *Botrytis cinerea* (Pers. ex Fr.) bajo condiciones de invernadero.**

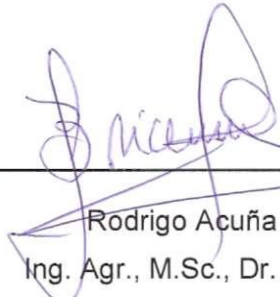
Proyecto de Tesis de Magíster  
presentado como Memoria de Título  
como parte de los requisitos para optar  
al título de Ingeniero Agrónomo

**Ursula Olivia Fitzner Henríquez**

Valdivia – Chile

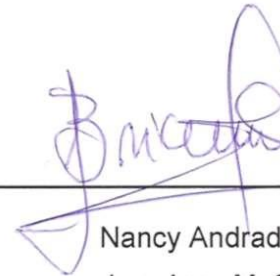
2015

PROFESOR PATROCINANTE:

pp.   
\_\_\_\_\_  
Rodrigo Acuña L.  
Ing. Agr., M.Sc., Dr. Hort.  
Facultad Ciencias Agrarias  
Universidad Austral de Chile

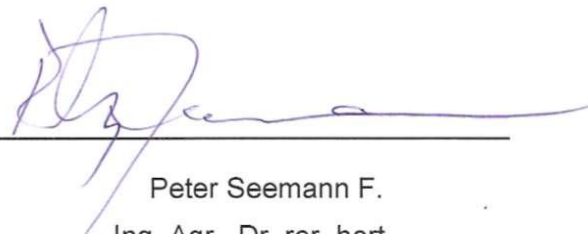
PROFESOR COPATROCINANTE:

O PROFESOR INFORMANTE

pp.   
\_\_\_\_\_  
Nancy Andrade S.  
Ing. Agr., M. Sc.  
Facultad Ciencias Agrarias  
Universidad Austral de Chile

PROFESOR COPATROCINANTE:

O PROFESOR INFORMANTE

  
\_\_\_\_\_  
Peter Seemann F.  
Ing. Agr., Dr. rer. hort.  
Facultad Ciencias Agrarias  
Universidad Austral de Chile

**INDICE DE MATERIAS**

<b>Capítulo</b>		<b>Página</b>
	RESUMEN	1
	SUMMARY	2
1	INTRODUCCIÓN	3
1.1.	Tratamiento presiembra	4
1.2.	Acondicionamiento osmótico en semillas (AO)	5
1.2.1.	Funciones de AO	5
1.2.2.	Ventajas del uso de AO	5
1.2.3.	Compuestos químicos para la utilización de AO	10
1.2.4.	PEG – 6000 como AO	12
1.3.	Magnetismo	13
1.3.1.	Magnetismo en la agricultura	14
1.3.2.	<i>Magnetopriming</i> (MP)	14
1.3.2.1.	Tratamiento magnético	14
1.3.2.2	Modo de acción de las fuerzas magnéticas en las células vegetales	15
1.3.2.3.	Membrana celular	15
1.3.2.4.	Cambios en el torrente iónico	16
1.3.2.5.	Aumento actividad metabólica	16

1.3.2.6.	Cambios en el contenido de pigmentos fotosintéticos	16
1.3.2.7.	Variación del contenido de proteína soluble	16
1.3.3.	Dosis magnéticas	17
1.3.4.	Efecto de las fuerzas magnéticas sobre las semillas	17
1.3.4.1.	Cambios fisiológicos provocados por MP en semillas	19
1.3.4.1.1.	Absorción de agua	19
1.3.4.1.2.	Enzimas hidrolíticas	20
1.3.5.	Efecto de MP en el crecimiento de cultivos	23
1.4.	Efecto de AO y campos magnéticos sobre hongos fitopatógenos	24
1.4.1.	AO sobre hongos fitopatógenos	24
1.4.2.	MP sobre hongos fitopatógenos	26
1.4.3.	<i>Botrytis cinérea</i>	28
2	HIPOTESIS DE TRABAJO	30
3	OBJETIVOS	31
3.1.	Objetivo general	31
3.2.	Objetivos específicos	31
4	METODOLOGÍA	32
4.1.	Ubicación y duración de los ensayos	32
4.2.	Material vegetal	32
4.3.	Ensayos en laboratorio	33

4.3.1.	Método de AO	33
4.3.2.	Exposición de semillas a campos magnéticos estacionarios	34
4.3.2.1.	Magnetización de semillas	34
4.3.2.2.	Primer ensayo MP	34
4.3.3.	Cámaras de germinación	35
4.3.4.	Evaluación de la germinación de semillas	35
4.3.5.	Imbibición	36
4.3.6.	Evolución de la germinación de semillas (TIME – LAPSE)	37
4.4.	Ensayos en campo	37
4.4.1	Invernaderos	37
4.5.	Almácigos	38
4.6.	Establecimiento del cultivo	39
4.6.1.	Marco de plantación	39
4.6.2.	Fertilizaciones	39
4.6.3.	Riego	40
4.7.	Parámetros a registrar	40
4.8	Parámetros a calcular	40
4.8.1.	Tasa de crecimiento	40
4.8.2.	Duración del ciclo de cultivo	40
4.9	Parámetros a medir	41

4.9.1.	Materia seca (g)	41
4.9.2.	Materia verde (g)	41
4.9.3.	Largo de raíz (cm)	41
4.9.4.	Incidencia de <i>B. cinerea</i>	41
4.10.	Análisis estadístico	42
5.	Plan de trabajo	43
5.1.	Plan de trabajo para la temporada de invierno 2015	43
5.2.	Plan de trabajo para la temporada de verano 2016	43
6.	Recursos disponibles	44
7.	Recursos solicitados	46
8.	Justificación de los recursos solicitados	47
9.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

## INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Condiciones climáticas para el sur de Chile	4
2	Respiración medida en absorción de O <sub>2</sub> en semillas primadas	8
3	Germinación de semillas de lechuga “Minetto” embebidas a 35°C.	9
4	Efecto de distinta intensidad y duración de la exposición a campos magnéticos en semillas de girasol (var. KBSH-1) en porcentaje (a) y velocidad (b) e índice de vigor (g,h)	17
5	Cambios en las vías simplásticas (a) y apoplásticas (b) de los contenidos de proteína soluble en hojas de chalota en respuesta a la exposición a campos magnéticos estacionarios (MF) y campos eléctricos (EF)	19
6	Cambios en la absorción de agua durante el tiempo de imbibición a 25°C de semillas tratadas magnéticamente (200mT durante 1h)	20
7	Cambios en la actividad de α-amilasa durante las horas de imbibición a 25°C de semillas de girasol ( <i>Helianthus annuus</i> ) expuestas a campos magnéticos (50mT y 200mT durante 2 h)	22
8	Cambios en la actividad de proteasas durante las horas de imbibición a 25°C de semillas de girasol ( <i>Helianthus annuus</i> ) expuestas a campos magnéticos (50mT y 200mT durante 2 h)	23
9	Variedades de lechuga a utilizar; Justine y Grand Rapid.	33
10	Disposición ensayo Polietilenglicol 6000	34
11	Tratamientos que serán utilizados para magnetizar semillas de lechuga variando la disposición de los campos magnéticos	35

12	Tasa de imbibición de semillas de lechuga var. Kendo acondicionadas osmóticamente con PEG – 6000.	37
13	Invernaderos a utilizar: invernadero 1 e invernadero 2.	38
14	Marco de plantación de lechugas en cada invernadero	39
15	Curva de retención de agua (CC; capacidad de campo; PMP; punto de marchitez permanente), suelo Estación Experimental Agropecuaria Austral.	40



**INDICE DE CUADROS**

<b>Cuadro</b>		<b>Página</b>
1	Efecto de los <i>priming</i> sobre semillas de lechuga expuestas a altas temperaturas durante la germinación.	7
2	Acondicionadores osmóticos utilizados para incrementar la germinación bajo condiciones ambientales desfavorables.	11
3	Concentración de PEG – 6000 con un potencias osmótico de -12,5 KPa a diferentes temperaturas.	13
4	Respuesta biológica de los cultivos según inducción (T) y tiempo de exposición (s) a campos magnéticos.	24
5	Efecto del AO en semillas de remolacha azucarera Tx18 sobre la emergencia e incidencia de enfermedades en suelo infectado con <i>Pythium ultimum</i> .	26
6	Velocidad de crecimiento en especies fúngicas expuestas a campos magnéticos comparadas con el control (sin exposición).	27
7	Aparición de los primeros síntomas, tasa de infección e incidencia de tizón temprano en plantas provenientes de semillas expuestas a campos magnéticos y su control (2002 – 2003, 2004 – 2004).	28

## RESUMEN

La producción de hortalizas es fuertemente afectada por las condiciones medioambientales del sur de Chile, debido a que tanto la temperatura como la radiación son altamente variables durante el año y en gran parte del ciclo sus valores se encuentran bajo los requerimientos mínimos ( $10^{\circ}\text{C}$  y  $8\text{MJ m}^{-2}\text{día}^{-1}$  respectivamente), lo que trae como consecuencia la desuniformidad del cultivo y disminución de los rendimientos.

La aplicación de tratamientos de presembrado a las semillas, ya sea mediante compuestos químicos como la aplicación de reguladores osmóticos o por cambios físicos provocados por la exposición de semillas a campos magnéticos han mostrado efectos positivos sobre el comportamiento en diferentes especies como en girasol (*Helianthus annuus*) (Vashisth, A., Nagarajan, S. 2010) , tomate (*Solanum lycopersicum*) (De Souza *et al.*, 1999) y melón (*Cucumis melo*) (Bhardwaj *et al.* 2012) entre otras, pudiendo ser una alternativa para mitigar los efectos medioambientales adversos propios del sur de Chile como también las expresiones fenotípicas que inciden en desuniformidad en la expresión de la especie. Estos tratamientos presembrado permitirían disminuir el efecto negativo de las bajas temperaturas y radiación aumentando la velocidad de germinación y la uniformidad de esta, mejorando la emergencia de las plantas y aumentando su vigor, además de disminuir la incidencia de enfermedades.

En esta investigación se trabajará aplicando tratamientos a semillas de lechuga (*Lactuca sativa*), que persiguen mejorar los indicadores antes mencionados de las variedades Justine y Grand Rapid en dos épocas de cultivo (verano e invierno de 2016) bajo los tratamientos de presembrado de acondicionamiento osmótico (Polietilenglicol 6000) y Magneto-*priming*. Los experimentos se llevarán a cabo tanto en los laboratorios de Fitotecnia y Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile como también en invernaderos ubicados en la Estación Experimental Agropecuaria Austral. Para cada tratamiento se medirá la variables involucradas en el rendimiento, como también la incidencia y severidad del hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*.

## SUMMARY

Vegetable production is strongly affected by environmental conditions in southern Chile , because both temperature and radiation are highly variable during the year and largely cycle values are under the minimum requirements ( $10^{\circ}\text{C}$  and  $8 \text{ MJm}^{-2}\text{day}^{-1}$  respectively), which results in non-uniformity and lower yields .

The application of treatments seed sowing , either by chemicals such as the application of osmotic regulators or physical changes caused by exposure to magnetic fields seeds have shown positive effects on behavior in different species and sunflower (*Helianthus annuus*) (Vashisth , A., Nagarajan, S. 2010), tomato (*Solanum lycopersicum*) ( De Souza et al., 1999 ) and melon (*Cucumis melo*) (Bhardwaj et al. 2012) among others, can be an alternative to mitigate adverse environmental effects typical of southern Chile as phenotypic expressions that affect unevenness in the expression of the species. These treatments allow preplant reduce the negative effect of low temperatures and radiation increasing the germination rate and uniformity of this , improving plant emergence and increasing its force , in addition to reducing the incidence of disease .

This research will work applying treatments lettuce seeds (*Lactuca sativa*) , aimed at improving the above indicators of Justine and Grand Rapid varieties into two growing seasons (winter 2015 and summer 2016) under the treatments of sowing of osmopriming (Polyethylene glycol 6000) and Magneto - priming . The experiments were carried out both in the laboratory of Plant and Plant Pathology, Faculty of Agricultural Sciences of the Universidad Austral de Chile as in greenhouses located in the Southern Agricultural Experiment Station. For each treatment the variables involved is measured in performance, as well as the incidence and severity of the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*.

## 1. INTRODUCCIÓN

Una latitud mayor a 25° puede limitar la producción de cultivos hortícolas por condiciones medioambientales propias asociada a la disminución de la radiación (Von Zabeltitz, 1999) como fuente de toda clase de energía. En general a medida que las latitudes están más alejadas al Ecuador, la disminución de energía juega un papel trascendente en el desarrollo de los cultivos, observándose retrasos, desuniformidades y producciones menores como consecuencia de la escasez (Pilatti y Bouzo, 2000).

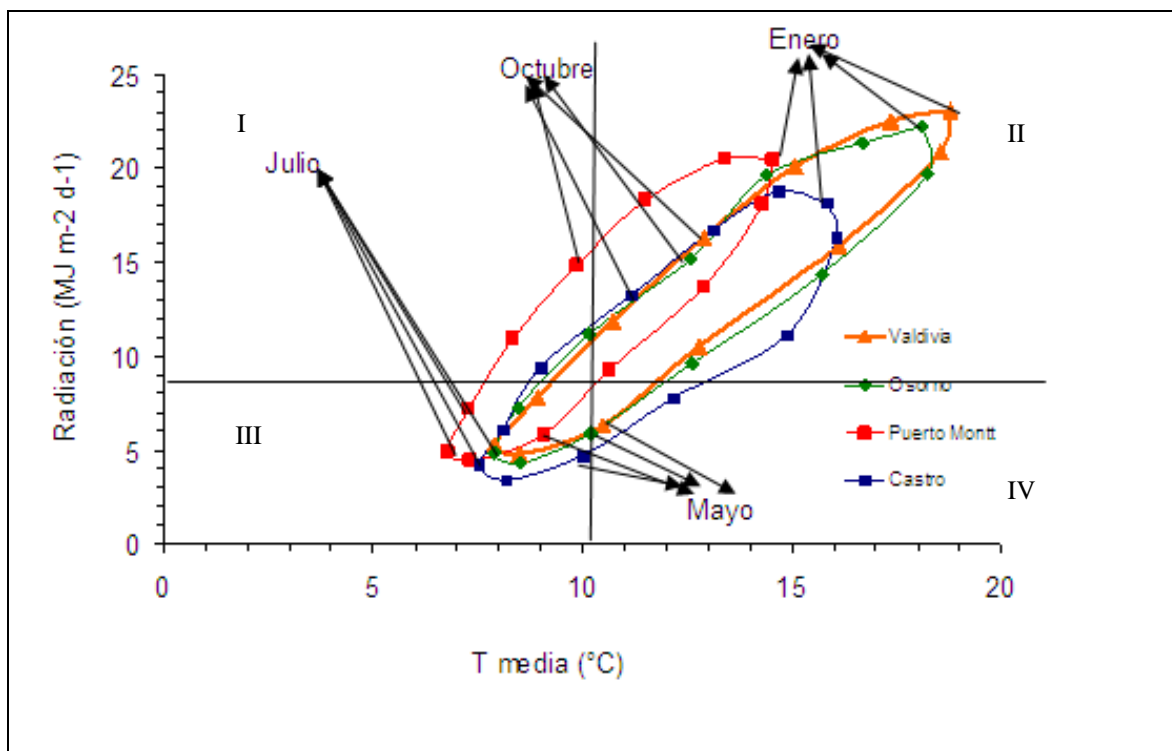
Las bajas temperaturas durante el período de germinación y crecimiento del cultivo y la baja intensidad de radiación solar la mayor parte del año hacen que la producción sea estacional<sup>-1</sup>.

Uno de los factores limitantes de la producción de hortalizas en el sur de Chile es la temperatura. La fluctuación de la temperatura es marcada durante el año, siendo en los meses de invierno (julio, julio y agosto) los que presentan menores temperaturas medias mensuales. Las temperaturas medias presentes desde mayo a septiembre son menores a los 12°C (Dirección Aeronáutica de Chile, DAC, 2013), superándose estos valores en los meses de primavera y verano.

Otro factor limitante para la producción de hortalizas en el sur de Chile es la radiación. Según aumentan las latitudes en orientación norte y sur la incidencia de radiación solar varía, siendo menor en latitudes mayores durante todo el año (CNE, 2008; PNUD, 2008; UTFSM, 2008). Según VON ZABELTITZ (1999) la radiación global mínima necesaria para el desarrollo de los cultivos hortícolas es de aproximadamente  $8\text{MJm}^{-2}\text{dia}^{-1}$ . Sin embargo para la realidad del sur de Chile, tal radiación incidente o mayor sólo se presenta en fines de primavera e inicios de verano (Gaete *et al*, 2012).

En la FIGURA 1 se pueden apreciar las condiciones climáticas medias mensuales para el sur de Chile, considerando tanto la radiación y temperatura mínima necesaria para la producción de hortalizas. La magnitud de radiación que limita la producción de hortalizas es bajo los  $8\text{MJ m}^{-2}\text{d}^{-1}$  mientras que para la temperatura las magnitudes limitantes son bajo los 10°C, por lo que cerca del 50% del año las condiciones ambientales del sur de Chile son sub óptimas para la producción de hortalizas. El

cuadrante I muestra la época del año que las zonas están en condiciones ambientales subóptimas para la temperatura, el cuadrante II muestra condiciones óptimas tanto para la temperatura como la radiación. En el cuadrante III los parámetros de temperatura y radiación son subóptimos para la producción de hortalizas, mientras que en cuadrante inferior derecho (IV) las condiciones ambientales son subóptimas para radiación.



**FIGURA 1 Condiciones climáticas para el sur de Chile.**

FUENTE: Datos adaptados desde la Dirección Aeronáutica de Chile, 2013.

### 1.1. Tratamientos presiembra

Una alternativa para favorecer el crecimiento y aumentar los rendimientos de los cultivos es la aplicación de tratamientos presiembra a las semillas (De Souza *et al.*, 1999). Estos tienen distintos fines como acelerar el proceso de germinación y hacerlo más uniforme, mejorar la emergencia de las plantas y disminuir el ataque de microorganismos como los causantes de la caída de plántulas (*Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, y *Fusarium*) (Nascimento, 2004). A su vez, estos tratamientos logran

aumentar el vigor de las plantas permitiéndoles resistir de mejor forma las condiciones ambientales desfavorables (Sanchez, 2001). Para BHRARDWAJ *et al.* (2012) los tratamientos pre siembra resultan útiles y exitosos cuando son aplicados a semillas con escaso porcentaje de germinación y cuando el cultivo se desarrolla bajo condiciones distintas de estrés. También se ha descrito que los tratamientos presiembra muestran resultados de interés sobre algunos hongos fitopatógenos (Nagy, 2004), siendo esta temática muy poco estudiada.

Entre los distintos tratamientos presiembra, también conocidos como *priming*, se encuentran métodos químicos como los de acondicionamiento osmótico (AO) (Yeonok *et al.*, 2000), o bien métodos físicos como lo es el sometimiento de las semillas a campos magnéticos estacionarios (Socorro *et al.*, 2013).

## **1.2. Acondicionamiento Osmótico en semillas (AO)**

Existen parámetros o indicadores fisiológicos propios de las semillas como la disminución del potencial germinativo y el porcentaje de emergencia que pueden ser mejorados mediante la aplicación de tratamientos presiembra de pre hidratación (Tarquis and Bradford 1992; Clerkx *et al.*, 2003 citado por Carrozzi *et al.*, 2012).

### **1.2.1. Modo de acción de AO en la semilla.** Según la Sociedad Española de Ciencias Hortícolas (1998), el AO es un proceso para iniciar la germinación antes de la siembra, teniendo como fin disminuir la etapa a emergencia, uniformar el desarrollo de las plántulas y a la vez aumentar el vigor de estas.

Los tratamientos pre siembra con acondicionadores osmóticos consisten en controlar la hidratación. Esta hidratación es controlada y tiene como fin activar los procesos metabólicos de la segunda fase de la imbibición (Pill, 1995 citado por Sanchez *et al.*, 2007) para luego interrumpir el desarrollo del embrión por medio de la desecación. (SANCHEZ y MUÑOZ, 1999). Esta desecación es controlada y su objetivo es evitar la emergencia de la radícula (Pill, 1995 citado por Sanchez *et al.*, 2007). En este estado la

semilla puede quedar latente y almacenada por un período variable que no supere los seis meses.

**1.2.2. Ventajas del uso de AO.** Se reconoce que los *priming* o acondicionadores osmóticos activan procesos bioquímicos y fisiológicos en las semillas, los cuales provocan respuestas positivas en la germinación (Heydecker *et al.*, 1973 citado por Sanchez y Muñoz, 1999). Por lo tanto, cuando se pretenda seguir con el proceso de germinación las semillas tendrán como punto de partida un proceso metabólico más desarrollado, logrando así en una primera instancia los beneficios ante un control. YARI y SHEIDAIE (2011) señalan que los tratamientos osmóticos a las semillas son utilizados para disminuir el tiempo entre la siembra y la emergencia, siendo también una herramienta útil para sincronizar la emergencia.

Se reconoce que la lechuga (*Lactuca sativa* L.) posee termoinhibición cuando se expone a temperaturas superiores a los 25°C durante el período de germinación. Según SCHWEMBER y BRADFORD (2010) someter a las semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) a AO disminuye la termoinhibición de estas, incrementando la temperatura máxima a la cual pueden ser expuestas. En un estudio realizado por YU SUNG (2008) se demostró el efecto que provoca la aplicación de acondicionadores osmóticos a cultivares de lechuga termosensibles (CUADRO 1).

**CUADRO 1 Efecto de los *priming* sobre semillas de lechuga expuestas a altas temperaturas durante la germinación.**

Cultivar (termosensibilidad)	Tratamiento	Germinación a 36°C	
		%Final	T <sub>50</sub> (h) <sup>2</sup>
Dark Green Boston (sensible)	No primada	0	No disponible
	Primada	86	16
Everglades (tolerante)	No primada	95	26
	Primada	100	12
PI251245 (tolerante)	No primada	93	17
	Primada	100	12

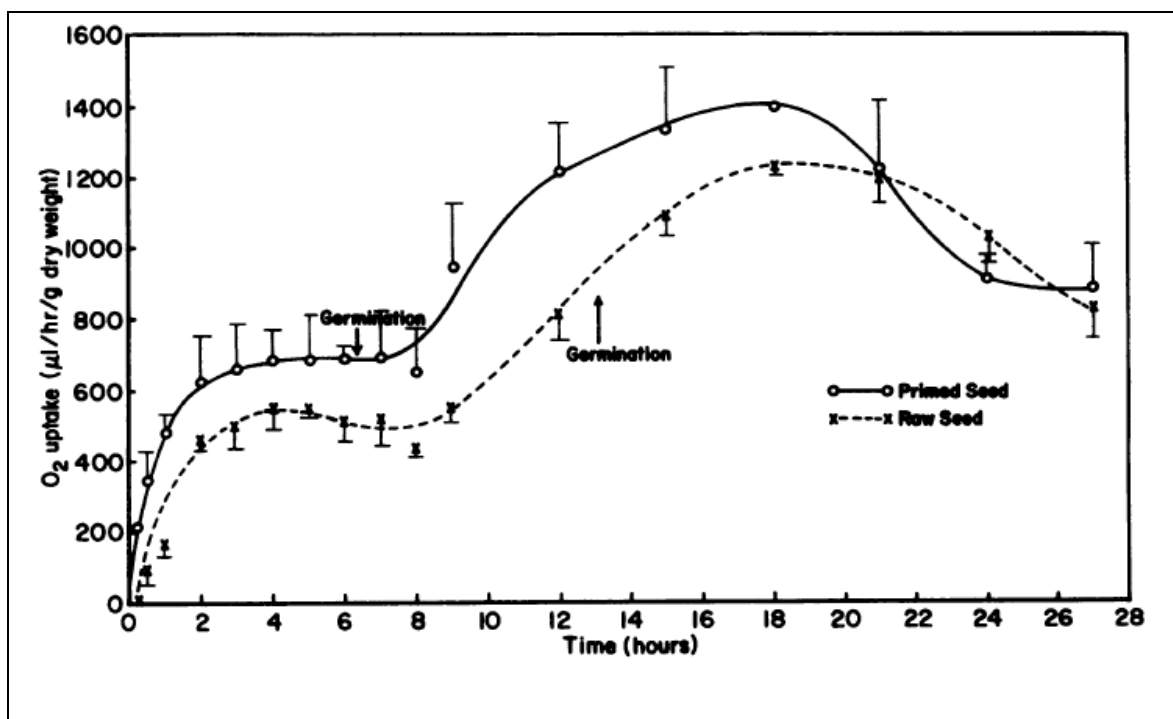
<sup>2</sup>T<sub>50</sub> = Tiempo hasta el 50% de la germinación

FUENTE: Yu Sung, 2008

Las semillas de lechugas de la variedad Dark Green Boston (variedad termo-sensible) que fueron primadas logran un 86% de germinación bajo condiciones adversas de temperatura en comparación con las semillas de la misma variedad que no fueron tratadas. De la misma forma, variedades tolerantes a las altas temperaturas logran sin ser acondicionadas un 95% de germinación versus un 100% cuando fueron expuestas al tratamiento. Además, el tiempo en que se logra el 50% de la germinación es menor en todas las variedades acondicionadas osmóticamente.

Bajo la misma línea planteada anteriormente, CANTLIFFE *et al.*, (1984) demuestra que la germinación ocurre antes en semillas que han sido tratadas osmóticamente. En la FIGURA 2 se compara la absorción de O<sub>2</sub> por parte de semillas que han sido tratadas osmóticamente y de semillas sin tratamiento, lo que sugiere efectos sobre el incremento en el metabolismo de las semillas cuando son expuestas a AO.



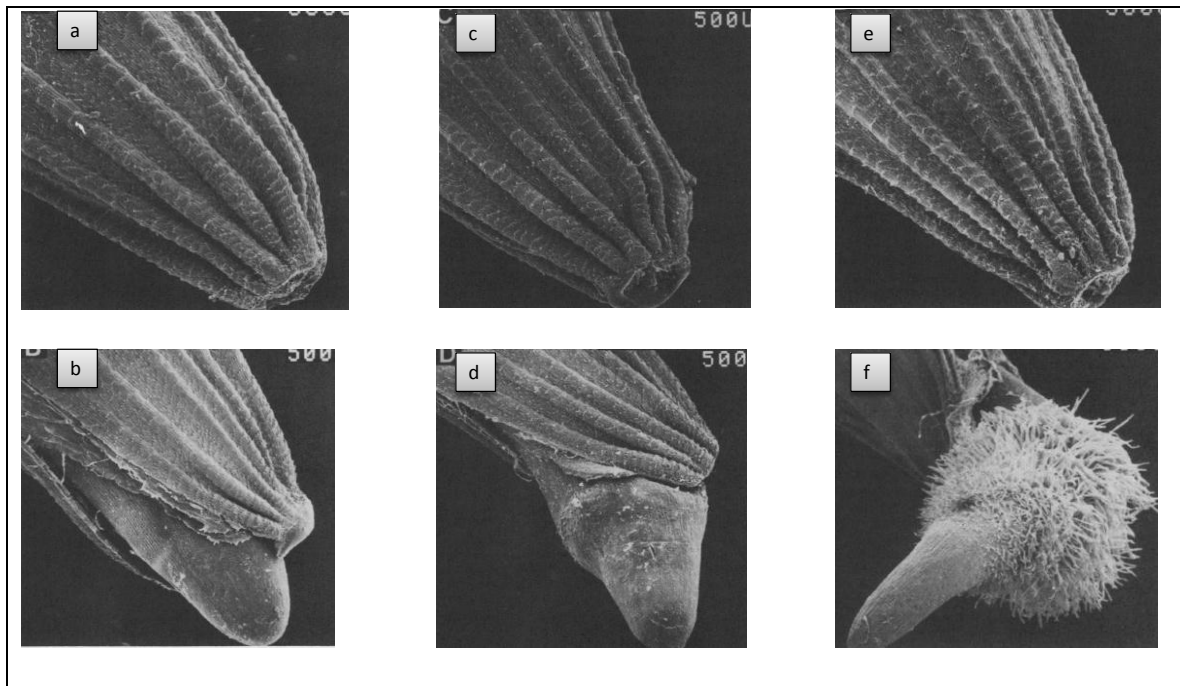


**FIGURA 2** Respiración medida en absorción de O<sub>2</sub> en semillas primadas (1% K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 9 h a 15°C y 5% de humedad) y semillas no primadas durante hidratación en agua en un periodo de 27 horas a 25°C.

FUENTE: Cantliffe et al., 1984

La pendiente de las semillas osmorreguladas es mayor en las primeras horas de hidratación y la germinación se presenta luego de 6 horas comenzado el proceso, mientras que en semillas no tratadas ocurre luego de 13 horas.

En el mismo estudio señalado anteriormente, se demuestra con imágenes (FIGURA 3) lo que ocurre con la emergencia de la radícula en semillas de lechuga no tratadas, correspondiente a las 3 imágenes superiores (a, c y e) y semillas primadas, correspondiente a las 3 imágenes inferiores (b, d y f).



**FIGURA 3** Germinación de semillas de lechuga “Minetto” embebida a 35°C. A-C-E, semillas no primadas. B-D-F, semillas primadas aireada en 1%  $K_3PO_4$  en oscuridad a 15°C por 9 h. A-B, 12 h; C-D, 18 h; y E-F, 24 h de periodo de germinación.

FUENTE: Cantliffe et al., 1984

Existen diversos factores que pueden influir en el éxito del tratamiento osmorregulador; el potencial osmótico de la solución y la aireación de esta, la temperatura y calidad de luz y finalmente la duración del tratamiento (Perera y Cantliffe, 1994 citado por Mora *et al.*, 2004). Es así como un estudio realizado por JANMOHAMMADI *et al.* 2007 demostró que la mayor vigorización de las semillas de lechuga se obtuvo con un potencial osmótico de -0,4MPa por 24 horas, demostrándose una mayor tasa de germinación y mayor longitud de radícula.

Los tratamientos de presembrado utilizando reguladores osmóticos pueden aumentar el vigor de las plantas y generar un mayor largo de raíz (Yari y Sheidaie, 2001). SIVRITEPE y DOURADO (1995), además señalan que los tratamientos osmorreguladores se presentan como una alternativa para revertir los efectos del envejecimiento de las semillas. También factores intrínsecos de la semilla, como el en caso de la baja germinación del

espárrago (*Asparagus officinalis*) (Carvalho *et al.*, 2005), la corta viabilidad de las semillas de cebolla (*Allium cepa*) (Sanchez *et al.*, 2007) así como también la débil adaptación del arroz a condiciones de salinidad (Dell'amico y Polon, 2008) pueden ser revertidos gracias a la aplicación de estos tratamientos. Así como factores internos de las semillas pueden ser modificados para favorecer los procesos metabólicos mediante los tratamientos en presembrado, también factores exógenos que impidan el correcto desarrollo de los procesos fisiológicos de las semillas, tales como la tolerancia a temperaturas sub y supra óptimas (Szopińska Y Tytkowska, 2004) . Según POBLETE (1999) los *priming* en lechuga (*Lactuca sativa*) se utilizan principalmente para superar la latencia que presenta esta especie bajo condiciones de temperatura subóptimas. Un estudio realizado por BONINA *et al.* (2007) obtuvieron como resultado que semillas de lechuga tratadas osmóticamente alcanzaron un 90% de germinación, mientras que semillas no tratadas sólo un 40%.

**1.2.3. Compuestos químicos para la realización de Acondicionamiento Osmótico.** El tipo de solución osmótica que se utilice depende de la especie y el éxito de esta tendrá estrecha relación con la variedad y calidad de la semilla. Entre los compuestos químicos más utilizados para el acondicionamiento osmótico en semillas de hortalizas se encuentran el polietilenglicol (PEG), glicerol, manitol y  $K_3PO_4$  (Nascimento, 2004). Para cada especie se han encontrado los mejores *priming* posibles de utilizar, por ejemplo en apio (*Apium graveolens L.*) los *priming* utilizados pueden ser tanto  $K_4PO_3$  y PEG, entre otros (Brocklehurst y Dearman, 1984 citado por Parera y Cantiliffe, 1994). Para el cultivo de lechuga en cambio, los *priming* propuestos por diferentes autores corresponden a Manitol y PEG (Hill *et al.*, 1989; Tarquis y Bradford, 1992; Valdez y Bradford, 1987 citado por Parera y Cantiliffe, 1994).

**CUADRO 2 Acondicionadores osmóticos utilizados para incrementar la germinación bajo condiciones ambientales desfavorables.**

Espece	Tratamiento	Referencia
<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	PEG, - 7,5 bar → 20°C por 7 días	Bewley, J.D; Black, M. 1982
<i>Cucumis melo</i>	2 – 3% KNO <sub>3</sub> → 15°C por 6 días	Bewley, J.D; Black, M. 1982
<i>Glycine max</i>	PEG, - 5 bar → 10°C por 10 días	Bewley, J.D; Black, M. 1982
<i>Zea mays</i>	PEG, - 10 bar → 10°C por 10 días	Bewley, J.D; Black, M. 1982
<i>Lactuca sativa</i>	K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> 1% → 15°C por 9 h.	Cantliffe <i>et al.</i> , 1984

Como se ha señalado anteriormente, el uso de los acondicionadores osmóticos tiene como fin, entre otros factores, acelerar el proceso que va desde la etapa de siembra a emergencia (Heydecker y Gibbins, 1978). Según GUBELLS (1975) las emergencias lentas tienen como resultado plantas más débiles, por lo que serían más vulnerables a enfermedades, ya sea del ambiente o transmitidas por el suelo. Es por esto último que se considera a los acondicionadores osmóticos como el PEG una herramienta importante para minimizar la incidencia de enfermedades en los cultivos. (Harris, 2006).

**1.2.4. PEG-6000 como AO.** Según MORA *et al.*, (2004) el éxito de un tratamiento osmorregulador depende de distintos factores, tales como el potencial osmótico que adquiera la solución y la aireación de esta. Además, la temperatura a la cual se realiza el acondicionamiento y la duración del mismo puede variar el potencial osmótico final de la solución.

Para SCHWEMBER y BRADFORD (2010) y MICHEL y KAUFMANN (1973) el potencial osmótico de una solución con PEG-6000 debe ser de -12,5 KPa y mantener este durante 48 horas en constante aireación. Luego de finalizado tal período, las semillas se deben enjuagar y secarlas a 32°C durante 2 horas.

El potencial osmótico de -12,5 KPa puede ser alcanzado a diferentes temperaturas dependiendo de la concentración a la cual se encuentre el acondicionador osmótico. Para esto, MICHEL y KAUFMANN (1973) proponen la siguiente ecuación para PEG 6000:

$$[PEG] = -(1,18 * 10^{-2} * T) - (1,18 * 10^{-4} * T^2) + (2,67 * 10^{-4} * T * \psi) + (8,39 * 10^{-7} * T^2 * \psi)$$

Ec.1

donde T es la temperatura (°C) a la cual se expondrá el tratamiento osmótico y  $\psi$  es el potencial osmótico que se desea en la solución.

Desde la ecuación anteriormente planteada se desprende el CUADRO 3 realizado para un potencial osmótico de -12,5 KPa y diferentes temperaturas.

**CUADRO 3 Concentración de PEG 6000 con un potencial osmótico de -12,5 KPa a diferentes temperaturas.**

Temperatura (°C)	[PEG 6000] gL <sup>-1</sup>	Temperatura (°C)	[PEG 6000]
1	281,0	11	300,6
2	282,9	12	302,7
3	284,7	13	304,9
4	286,6	14	307,1
5	288,5	15	309,3
6	290,5	16	311,5
7	292,5	17	313,8
8	294,5	18	316,1
9	296,5	19	318,5
10	298,5	20	320,9

FUENTE: Datos obtenidos según ecuación planteada por MICHEL y KAUFMANN, 1973.

### 1.3. Magnetismo

El magnetismo es la propiedad de atraer objetos como el acero, hierro u objetos magnéticos. La fuerza que se ejerce para atraer los objetos se denomina fuerza magnética, que produce la repulsión de los polos similares mientras que a polos opuestos los atrae. La fuerza magnética se produce entre el campo magnético y una partícula que está en movimiento, siendo esta fuerza máxima cuando la partícula se encuentra perpendicular al campo y mínima cuando se encuentra en sentido paralelo (Hewitt, 2004).

Existen dos tipos de campos magnéticos, variables y estáticos. Los campos magnéticos estáticos producen una fuerza constante en el tiempo y pueden ser producidos con imanes permanentes (Calderon – Miranda et al., 1999). El mismo autor señala que la intensidad del campo magnético se mide según la fuerza que este ejerza en la unidad de Tesla o Gauss, donde un Tesla (T) equivale a 10.000 Gauss (G).

**1.3.1. Magnetismo en la Agricultura.** A mediados del siglo XIX Reinke (1876) investigó la relación existente entre el desarrollo de las plantas y los campos magnéticos, no obteniendo resultados en cuanto a la interacción. Años más tarde, Tolomei (1893) observó que las semillas al ser expuestas a campos magnéticos se veían favorecidas en la germinación. Mismo resultado obtuvo Sawostin (1930) observando que los campos magnéticos aceleraban el crecimiento de las raíces y aumentaban la permeabilidad de la membrana. Las investigaciones sobre el efecto del biomagnetismo aparecieron luego en los años 60's publicados en Estados Unidos por Barnothy en los años 1964 y 1969, y en la Unión Soviética publicado en el año 1971 por Presman (Pietruszewski, 2014). Los estudios sobre el efecto que provocan los *Magnetopriming* en los organismos vivos, específicamente en las semillas, han aumentado gracias a los múltiples beneficios que se obtienen mediante su aplicación.

Actualmente la agricultura moderna promueve la producción amigable con el medio ambiente, tratando de disminuir la aplicación tanto de herbicidas como pesticidas (Vashisth y Nagarajan, 2010). Es por esto que se han introducido nuevas técnicas de producción, que disminuyan los costos y mantengan la estabilidad medioambiental (Tanvir *et al.*, 2012).

La exposición de semillas a campos magnéticos (Magnetopriming) se utiliza como tratamiento presembrado no invasivo y como una alternativa para favorecer la germinación, además de aumentar el vigor y por consecuencia rendimiento final del cultivo (Madukakkuzhyil, 2011).

### **1.3.2. Magneto *priming* (MP)**

**1.3.2.1. Tratamiento magnético.** Otra alternativa como tratamiento pre – siembra a semillas son los cambios físicos que se pueden provocar mediante la exposición de las semillas a campos magnéticos (De Souza *et al.*, 2006).

La exposición de semillas a campos magnéticos actúa como un estimulante para la semilla, considerándose este tratamiento como una vía alternativa

para disminuir el uso de químicos que tengan como fin el provocar efectos similares (Vakharia *et al.*, 1991 citado por Madukakkuzhyil *et al.*, 2011).

Según MAQUEDA (2008) existe una amplia variedad de respuestas a los tratamientos pre siembra mediante la exposición de semillas a campos magnéticos. Para el mismo autor, estas respuestas están en estrecha relación con la intensidad y tipo de campo magnético, ya sea estacionario o variable, y el tiempo en el que las semillas están expuestas a este. Además, DE SOUZA *et al.* (1999) señala que el éxito del tratamiento magnético depende también del grado de humectación que presentan las semillas una vez que serán expuestas al tratamiento. Para ALADJADJIYAN (2010) el éxito de un tratamiento magnético no solo depende de la intensidad del campo, sino también del tiempo en que las semillas sean expuestas a este, haciendo alusión al concepto de dosis.

#### **1.3.2.2. Modo de acción de las fuerzas magnéticas en las células vegetales.**

Las acciones que ejercen los campos magnéticos sobre las células son diversas. Según LIBOFF y JENROW (2000) ha habido múltiples discusiones sobre la intensidad del campo magnético que puede detectar la célula. Los mismos autores propusieron denominar este efecto como la mínima intensidad a la cual las células son sensibles a los campos magnéticos.

**1.3.2.3. Membrana celular.** Para BRADWAJ (2012) los campos magnéticos influyen en la estructura de la membrana celular aumentando su permeabilidad y el transporte iónico lo que supone aumentaría el metabolismo de la semilla.

**1.3.2.4. Cambios en el torrente iónico.** Otros autores señalan que los efectos causados por los campos magnéticos pueden ser provocados por la interacción de la fuerza magnética con el torrente iónico en la membrana celular. Los campos magnéticos establecerían un diferencial osmótico entre ambos lados de la membrana celular del embrión (Yaycili y Alikamanoglu, 2005 citado por Madukakkuzhyil *et al.*, 2011). Para



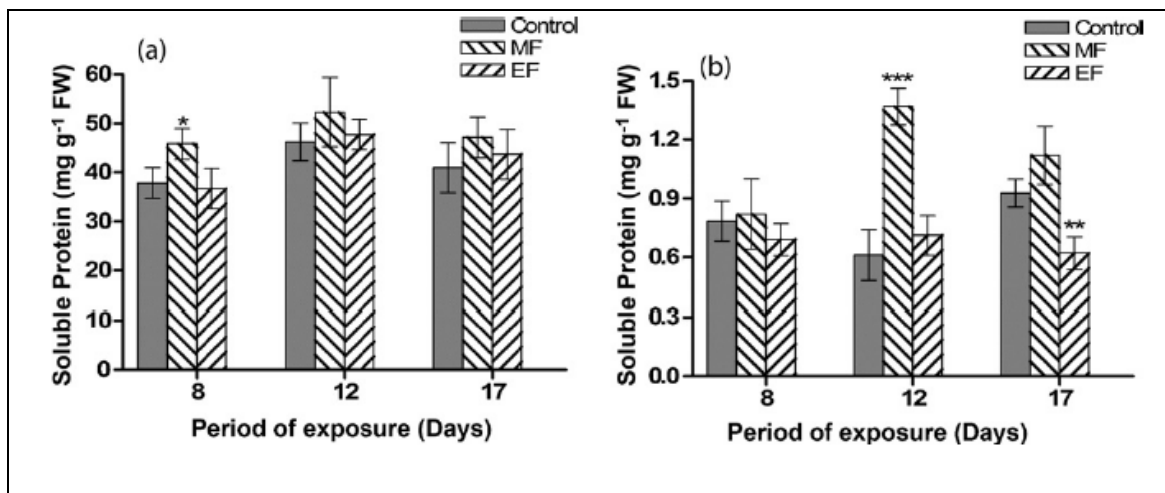
ALADJADJIYAN (2010) el éxito del MP se originaría en el efecto que producen los campos magnéticos sobre las propiedades magnéticas de algunos átomos que se encuentran en las células de las plantas. También menciona que las propiedades magnéticas de algunas moléculas determinan la capacidad de éstas para absorber la energía del campo magnético proveniente desde el exterior, pudiendo así transformar esa energía y transferirla a otras células vegetales ubicadas en otras estructuras de la planta.

**1.3.2.5. Aumento actividad metabólica.** Los tratamientos pre siembra mediante la exposición de las semillas a campos magnéticos estimula la actividad metabólica de las células, aumentando la síntesis de proteínas y replicación del ADN (McDonald, 2000 citado por Bhardwaj *et al*, 2012). Además, el impacto energético que provocan los MP pueden afectar positivamente la distribución de la energía en la planta, acelerando los procesos metabólicos, favoreciendo el crecimiento y el vigor de la planta (Aladjadjiyan, A. 2002 citado por Dhawi, F. 2014).

**1.3.2.6. Cambios en el contenido de pigmentos fotosintéticos.** Tanto cloroplastos como carotenoides son pigmentos fundamentales para la absorción de energía solar por parte de las plantas. Los cloroplastos tienen propiedades magnéticas que pueden ser alteradas por campos magnéticos externos, aumentando así la energía interior del cloroplasto. Este aumento de energía interior provoca una serie de reacciones químicas y metabólicas que favorecen el desarrollo de las plantas (Sahebamei *et al.*, 2007; Scaiano *et al.*, 1994; Abdolmaleki *et al.*, 2007 y Campbell, 1977 citado por Dhawi, F. 2014).

**1.3.2.7. Variación en el contenido de proteína soluble.** ÇAKMAK *et al.*, (2012) demostraron los efectos sobre la cantidad de proteína soluble tanto en la vía apoplástica como simplástica de hojas de chalota que han sido tratadas con campos magnéticos. En ambas vías el contenido de proteína soluble es mayor en comparación al control, siendo

significativamente mayor con una exposición al campo magnético de 8 h para el contenido en la vía apoplástica y con 12 h de exposición para el contenido en la vía simplástica (FIGURA 4).



**FIGURA 4** Cambios en la vía simplástica (a) y apoplástica (b) de los contenidos de proteína soluble en hojas de chlorella en respuesta a la exposición a campos magnéticos estacionarios (MF) y campos eléctricos (EF). Los datos fueron medidos  $\pm$  SE de al menos 6 mediciones diferentes. Los valores son demostrados en diferentes símbolos (\*, \*\*, y \*\*\*) en la misma columna indicando la diferencia significativa con respecto al control (\* $P < 0,05$ , \*\* $P < 0.01$ , o \*\*\* $P < 0,001$ ).

FUENTE: Cakmak *et al.*, 2012

**1.3.3. Dosis magnéticas.** Los campos magnéticos pueden afectar tanto positiva como negativamente a las plantas dependiendo del flujo y la intensidad del campo magnético al cual sean expuestas y también al tiempo de exposición (Dhawi, F. 2014). Los tratamientos magnéticos a semillas consideran tanto intensidad como tiempo de exposición a campos magnéticos. Es por esto, que KORNARZYNSKI y PIETRUSZEWSKI (1998) proponen el concepto de dosis. Los autores anteriormente mencionados proponen la siguiente ecuación:

$$D = \frac{10^7}{8\pi} B^2 t \quad (\text{J m}^{-3}\text{s})$$

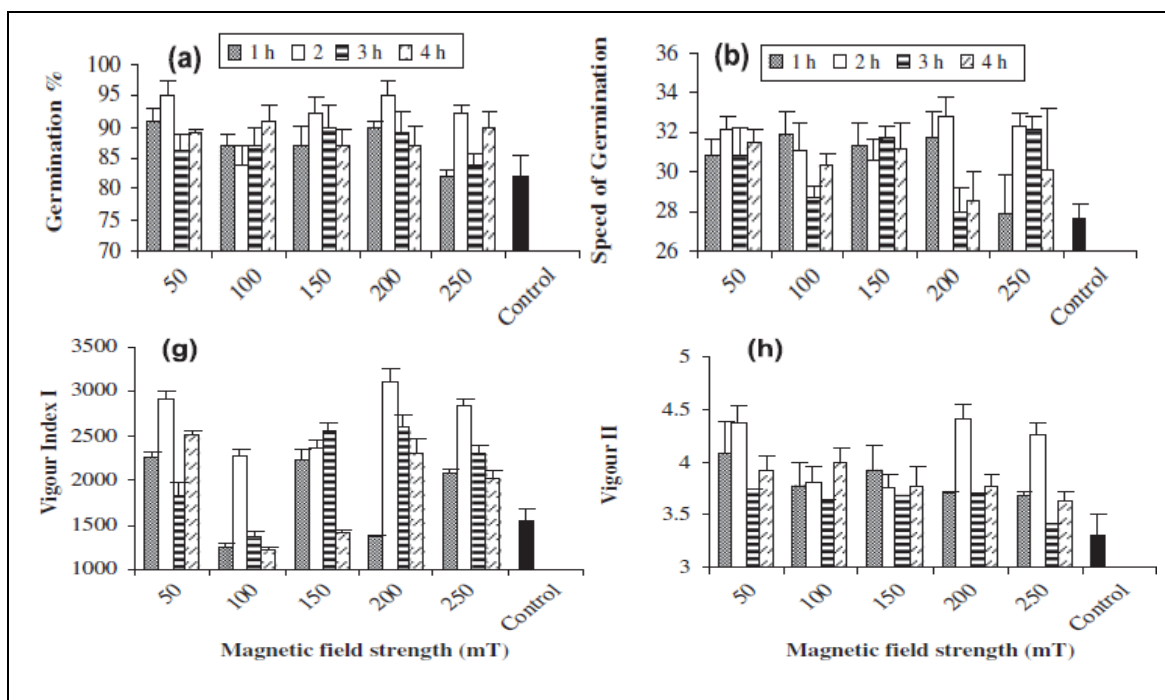
Donde B es la inducción del magneto (T) y t es el tiempo de exposición (s).

**1.3.4. Efecto de las fuerzas magnéticas sobre las semillas.** La exposición de semillas a campos magnéticos estacionarios provoca distintos efectos sobre estas, entre los cuales se encuentra un aumento en el porcentaje y tasa de germinación, además de aumentar el peso de las semillas (De Souza *et al.*, 1999).

Las fuerzas magnéticas pueden favorecer los sistemas antioxidantes de las semillas dando como resultado la disminución de la tasa de oxidación de los lípidos, aumentando así el vigor de las semillas (McDonald, 2000 citado por Bhardwaj *et al.*, 2012).

En semillas de pepino, BHARDWAJ *et al.* (2012) menciona que al exponerlas a campos magnéticos se incrementa la absorción de agua, presentándose una rápida hidratación y por consiguiente una activación de las enzimas propias de la germinación como la  $\alpha$ -amilasa.

Un estudio realizado en semillas de girasol expuestas a MP demostró que bajo distintas intensidades y tiempos de exposición el porcentaje de germinación de las semillas magnetizadas fue superior a las semillas correspondientes al control, ocurriendo lo mismo en el parámetro de velocidad de germinación. De la misma forma el vigor de las semillas fue mayor cuando las semillas de girasol fueron tratadas magnéticamente, independiente tanto de la intensidad como del tiempo de la exposición (FIGURA 5).



**FIGURA 5** Efecto de diferente intensidad y duración de la exposición a campos magnéticos en semillas de girasol (var. KBSH-1) en porcentaje de germinación (a), velocidad de germinación (b) e índice de vigor (g, h).

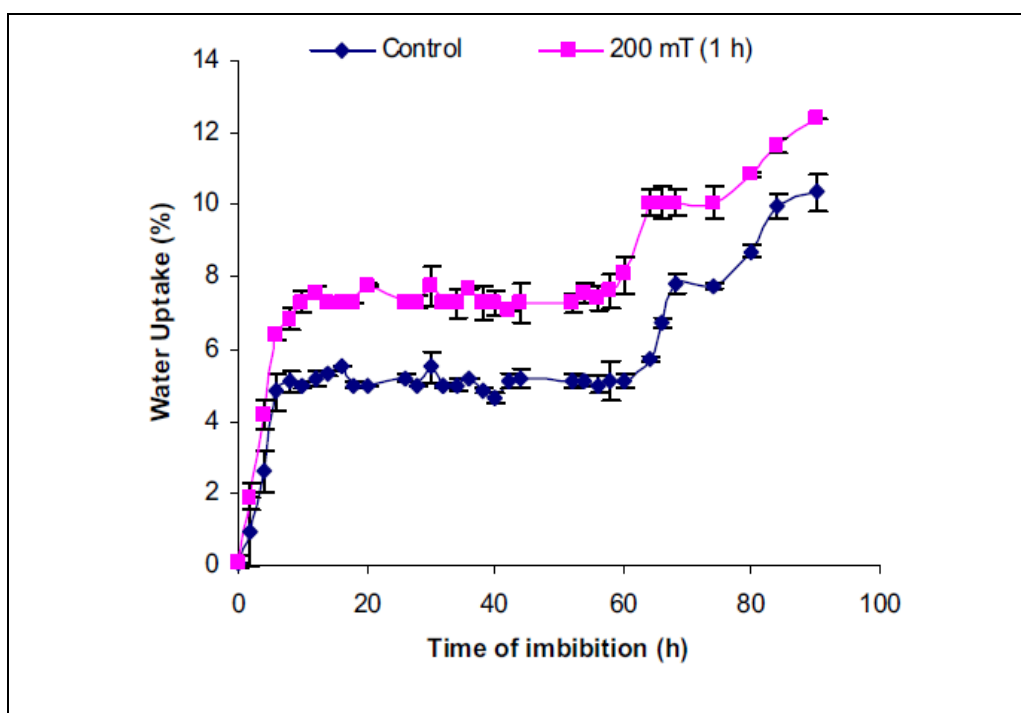
FUENTE: Vashisth y Nagarajan, 2010

Según ZAMIRAN *et al.* (2013), la aplicación de campos magnéticos a las semillas *Zinnia elegans* afecta positivamente el largo y el peso de las raíces. Como señala el mismo autor, los tratamientos afectan también la velocidad y el porcentaje de germinación de las semillas. La exposición a estos campos magnéticos aumentan la actividad fisiológica de las semillas, variando el porcentaje de germinación, aumentando el vigor y por consiguiente el rendimiento final del cultivo (Pietruszewski, 1993; Socorro *et al.*, 1993 citado por Socorro y Fraga, 2007). En un estudio realizado en semillas de frijol sometidas a campos magnéticos luego de estar en inadecuadas condiciones de almacenaje, se generó un aumento significativo en la germinación de semillas (Socorro y Fraga, 2007).

Existen distintas teorías sobre el por qué los tratamientos magnéticos provocan un cambio en la tasa de germinación y en la elongación de la radícula, además de aumentar el vigor de las semillas.

#### 1.3.4.1. Cambios fisiológicos provocados por MP en semillas.

1.3.4.1.1. **Absorción de agua.** Autores como BHARDWAJ *et al.*, (2012) proponen que estos cambios pueden ser producidos por un aumento en la absorción de agua, siendo un 104% mayor que el control en un estudio realizado en pepino (*Cucumis sativus* L.). En la FIGURA 6 se muestra de forma gráfica el porcentaje de absorción de agua por parte de la semilla de pepino durante las primeras horas de imbibición.

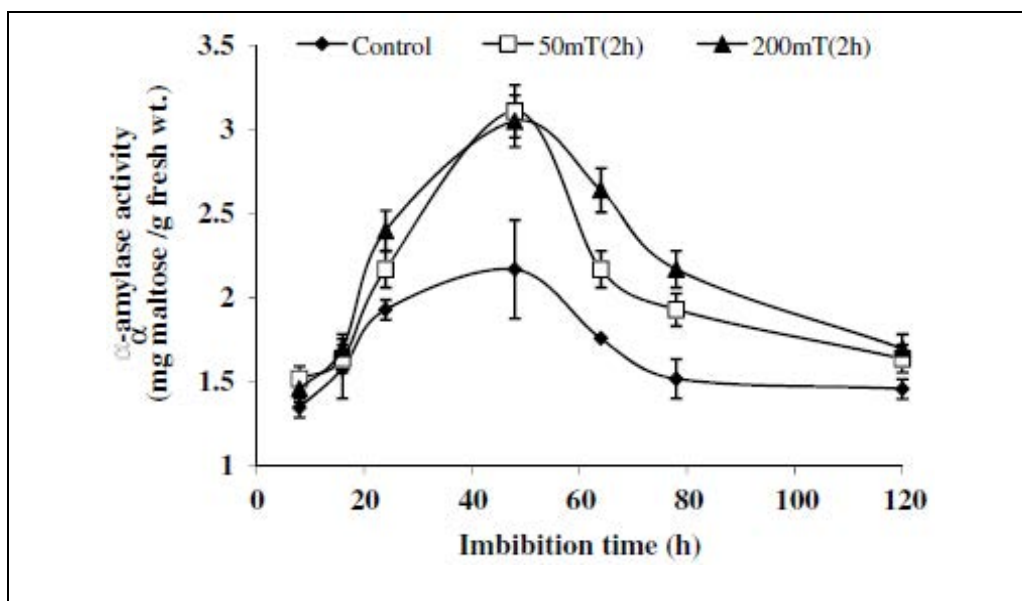


**FIGURA 6** Cambios en la absorción de agua durante el tiempo de imbibición a 25°C de semillas tratadas magnéticamente (200mT durante 1 hora) y el control. Valores corresponden a 3 mediciones. Las barras representan  $\pm$  SE (n=3).

FUENTE: BHARDWAJ *et al.*, 2012

Se observa en la FIGURA 6 que el porcentaje de absorción de agua en las primeras 10 horas desde comenzada la imbibición es aproximadamente el doble en semillas tratadas magnéticamente en comparación con el control, manteniéndose por sobre la curva durante todo el transcurso del periodo de imbibición.

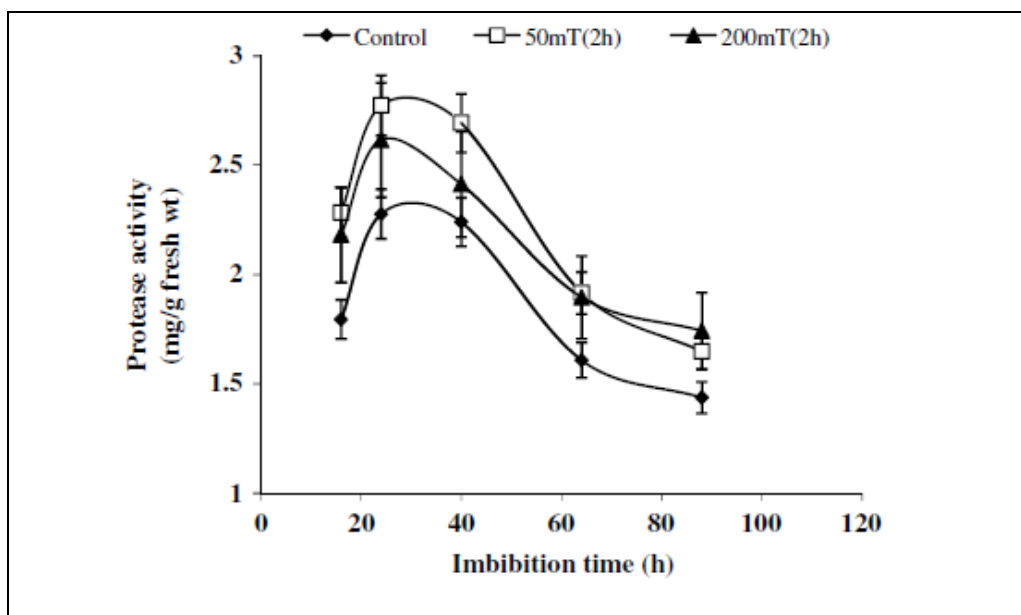
**1.3.4.1.2. Enzimas hidrolíticas.** Las enzimas hidrolíticas tienen una participación activa en todo el proceso de germinación, permitiendo la degradación de fuentes de reserva de energía ( $\alpha$ -amilasas) y también la degradación de proteínas (proteasas). VASHISTH y NAGARAJAN (2010) determinaron la actividad de enzimas hidrolíticas en las semillas de girasol (*Helianthus annuus*) luego de haber sido expuestas a campos magnéticos de 50mT y 200mT durante 2 horas. En la FIGURA 7 se observa la gráfica correspondiente a la actividad de  $\alpha$ -amilasas. Para ambas dosis de MP la actividad de la  $\alpha$ -amilasas se ve favorecida en comparación con las semillas del control. La actividad de esta enzima incrementa hasta las 48h luego de comenzado el proceso de imbibición, siendo un 43% con una dosis de  $7 \text{ MJ m}^{-3} \text{ s}$  y un 41% superior al control con dosis correspondiente a  $114 \text{ MJ m}^{-3} \text{ s}$ ,



**FIGURA 7** Cambios en la actividad de  $\alpha$ -amilasa durante las horas de imbibición a 25°C de semillas de girasol (*Helianthus annuus*) expuestas a campos magnéticos (50mT y 200mT por 2 h).

FUENTE: Vashisth y Nagarajan, 2010

En la FIGURA 8 se encuentra la gráfica correspondiente a la evolución de la actividad de las proteasas, enzimas encargadas de degradar las proteínas necesarias para la germinación. La actividad de esta enzima hidrolítica aumenta correspondiente avanzan las horas luego de comenzado el proceso de imbibición, hasta aproximadamente las 24 horas, obteniéndose valores superiores para ambas dosis de tratamiento. Dosis de  $7 \text{ MJ m}^{-3} \text{ s}$  (50mT durante 2 h) registran un 22% más de actividad de las proteasas, mientras que con dosis de  $114 \text{ MJ m}^{-3} \text{ s}$  (200mT durante 2 horas) alcanza un 15% más de actividad en relación al control.



**FIGURA 8** Cambios en la actividad de proteasas durante las horas de imbibición a 25°C de semillas de girasol (*Helianthus annuus*) expuestas a campos magnéticos (50mT y 200mT por 2 h).

FUENTE: Vashisth y Nagarajan, 2010

**1.3.5. Efecto de MP en el crecimiento de cultivos.** Diversos cultivos han sido expuestos a campos magnéticos con el fin de conocer las ventajas y las respuestas biológicas que estos producen sobre los organismos vivos. Una gran variedad de estudios se han centrado principalmente en determinar los cambios fisiológicos que se producen en la semilla, tales como la actividad de enzimas hidrolíticas y la absorción de agua (Vashisth y Nagarajan, 2010). Otras respuestas de interés son el cambio que se produce en el porcentaje de germinación y la velocidad de esta, además del vigor y largo de la raíz (Hussein et al., 2012, pudiendo ser estas últimas respuestas el resultado de los cambios fisiológicos que se producen en la semilla (Vashisth y Nagarajan, 2010). El CUADRO 4 muestra un compilado de algunos de los diferentes estudios sobre la respuesta biológica que se genera en cultivos de interés agronómico luego de haber sido expuestos a campos magnéticos, considerando la inducción (T) y el tiempo de exposición (s).



**CUADRO 4 Respuesta biológica de cultivos según inducción (T) y exposición (s) a campos magnéticos**

Especie	Inducción (T)	Exposición (s)	Respuesta	Referencia
<i>Triticum aestivum</i>	0,050	1800	10% ↑ largo raíz 14% ↑ proteína 8% ↑ radícula	Hussein <i>et al.</i> (2012)
<i>Melissa officinalis</i> L.	0,075	900	↑ % y velocidad de germinación ↑ peso semilla ↑ [aceites esenciales]	Hoseini <i>et al.</i> (2013)
<i>Hordeum vulgare</i> L.	0,15	864 x 10 <sup>3</sup>	Producción anticipada brotes visibles (8 a 12 horas antes)	Pittman, U.J, Ormrod, D.P. (1970)
<i>Cucumis sativus</i> L.	0,2	3600	↑ 18,5% germinación ↑ 65% índice de vigor ↑ 104% absorción de agua ↑ 51% actividad β-amilasa	Bharwaj <i>et al.</i> (2012)
<i>Helianthus annuus</i>	0,05 0,2	7200	↑ % emergencia ↑ actividad α-amilasa, deshidrogenasa y proteasa	Vashisth, A., Nagarajan, S. (2010)
<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill	0,14	60	↑ altura de plantas (11,68 cm)	De Souza <i>et al.</i> (1999)
<i>Glycine max</i> L.	0,15 0,1	30	↑ % germinación ↑ largo de raíz	Socorro <i>et al.</i> (2013)

<i>Oryza sativa</i> L.	0,15	1200	↑ 12% velocidad de germinación ↑ % germinación	Carbonell <i>et al.</i> (2000)
<i>Allium ascalonicum</i> L.	0,007	43200	↑ proteína vía apoplástica y simplástica	<i>Cakmak et al.</i> (2012)
<i>Leucaena leucocephala</i> L.	0,075	720	↑ % germinación ↑ altura máx. planta	Tanvir <i>et al.</i> 2012
<i>Glycine max</i> L.	0,2	3600	↑ rendimiento fotosistema II	Madukakkuzhyil, <i>et al.</i> (2011)
<i>Lens culinaris</i>	0,15	360	↑ crecimiento y rendimiento	Aladjadjiyan, A. (2010)

#### 1.4. Efectos de los acondicionadores osmóticos y campos magnéticos sobre hongos fitopatógenos

Los tratamientos presiembra mediante la exposición de semillas a campos magnéticos (MP) y acondicionadores osmóticos (AO) tienen como uno de sus efectos positivos el aumentar el porcentaje de germinación y el vigor de las semillas. Una de las teorías por las que estas prácticas podrían ser beneficiosas para contrarrestar las infecciones sería debido a que la planta se mantendría muy poco tiempo en estado de plántula por lo que sería menos tiempo vulnerable a las infecciones.

**1.4.1. AO sobre hongos fitopatógenos.** En un estudio realizado en remolacha azucarera (*Beta vulgaris* L.) se demostró que las semillas que habían sido acondicionadas osmóticamente con 3 tipos distintos de *priming* (Matriz sólida, PEG y NaCl) y sembradas en suelo infectado con el hongo fitopatógeno causante de la caída de plántulas (Damping-off) *Pythium ultimum* lograron un mejor establecimiento de cultivo y además mostraron un menor porcentaje de caída de plántulas en pre – emergencia, obteniéndose diferencias significativas entre los 3 tratamientos anteriormente mencionados en comparación con semillas solo embebidas en agua y el

control. El estudio no demostró diferencias significativas en el porcentaje de Damping-off durante la etapa de post – emergencia (Rush, C. 1991).

**CUADRO 5 Efecto del AO en semillas de remolacha azucarera Tx18 sobre la emergencia y la incidencia de enfermedades en suelo infectado con *Pythium ultimum*.**

Tratamiento	Emergencia (%)			Damping-off (%)	
	3 días	8 días	15 días	Pre-emergencia	Post-emergencia
NaCl	6,1 b	51,1 b	36,1 b	48,9 b	32,6 a
PEG	3,3 b	48,9 b	33,9 b	51,1 b	32,9 a
Matriz solida	25 a	63,3 a	47,2 a	36,7 a	25,9 a
Agua	0,6 b	15,6 c	9,4 c	84,4 c	42,0 a
Control	0,6 b	16,6 c	8,9 c	83,3 c	40,1 a

FUENTE: Rush, C. 1991

#### 1.4.2. MP sobre hongos fitopatógenos

Según CALDERÓN – MIRANDA *et al.* (1999) los campos magnéticos también podrían influir sobre la incidencia de microorganismos. Para este autor, la intensidad mínima a la cual deberían exponerse los microorganismos para inactivarlos es de 5 a 50 T. NAGY (2005) estimó que al exponer fitopatógenos (*Alternaria alternata*, *Curvularia inaequalis* y *Fusarium oxysporum*) a campos magnéticos estacionarios la tasa de crecimiento del micelio de los 3 hongos fitopatógenos decaía con respecto al control, considerando su crecimiento como un 100%.

**CUADRO 6 Velocidad de crecimiento en especies fúngicas expuestas a campos magnéticos comparados con el control (sin exposición).**

Especies fúngicas	Velocidad de crecimiento relativo en relación al control		
	0,1mT	0,5mT	1mT
<i>Alternaria alternata</i>	90,2±6,1 (***)	96,4±12,2 (NS)	84,9±32,0 (*)
<i>Curvularia inaequalis</i>	88,5±6,8 (***)	79,8±16,4 (**)	96,3±44,3 (NS)
<i>Fusarium oxysporum</i>	91,7±8,3 (***)	92,0±27,2 (NS)	93,9±31,7 (NS)

Significancia: NS: Sin significancia, \*: Significancia al 95%, \*\*: Significancia al 99%, \*\*\*: Significancia al 99,9%.

FUENTE: Nagy, 2005

En un estudio realizado por DE SOUZA *et al.*, (2006) en semillas de tomate tratadas magnéticamente se demostró un retraso en la aparición de síntomas del tizón temprano. Esto indica una disminución en la susceptibilidad de las plantas de tomate a este patógeno. En el CUADRO 7 los dos tratamientos (T1: 0,1T por 10 min, T2: 0,17T por 3 min) no muestran diferencias significativas, mientras que sí las tienen con el control.

**CUADRO 7 Aparición de los primeros síntomas, tasa de infección e incidencia de tizón temprano en plantas provenientes de semillas expuestas a campos magnéticos y su control (2002 – 2003, 2004 – 2004).**

	Aparición primeros síntomas (días)		Tasa de infección (%)		Incidencia de enfermedad	
	2002 - 2003	2003 - 2004	2002 – 2003	2003 - 2004	2002 – 2003	2003 – 2004
Tratamientos magnéticos						
T1	23 <sup>a</sup>	22 <sup>a</sup>	3,10 <sup>a</sup>	4,02 <sup>a</sup>	19,19 <sup>a</sup>	22,0 <sup>a</sup>
T2	25 <sup>a</sup>	23 <sup>a</sup>	2,94 <sup>a</sup>	3,15 <sup>a</sup>	14,19 <sup>a</sup>	19,47 <sup>a</sup>
Control	15 <sup>b</sup>	15 <sup>b</sup>	6,57 <sup>b</sup>	7,04 <sup>b</sup>	21,28 <sup>a</sup>	20,71 <sup>a</sup>

En las columnas, los valores con las mismas letras no muestran diferencias significativas ( $P < 0,5$ ) de acuerdo al test de Newman – Keuls. Los datos son considerados de 80 plantas por tratamiento.

FUENTE: De Souza, 2006.

La información previa permite visualizar alternativas de manejo para diferentes enfermedades y mejorar los conocimientos por medio de estos tratamientos. Por lo anterior, utilizar esta información en el manejo de una enfermedad como *Botrytis cinerea* puede resultar de utilidad para disminuir la aplicación de productos químicos dañinos para el medio ambiente.

**1.4.3. *Botrytis cinerea*.** Este hongo causa daño en gran número de especies vegetales, afectando tanto en etapa de cultivo como en post cosecha. La infección comienza con la presencia de manchas acuosas, que luego se tornan de un tono gris, presentándose abundante esporulación grisácea sobre el tejido, para transformarse finalmente en manchas necróticas sobre los tejidos del cultivo (Agrios, 1995; Ciampi *et al.*, 2006).

Para la incidencia de cualquier enfermedad es necesario: un hospedero susceptible, un patógeno y condiciones ambientales favorables para la infección.

Uno de los patógenos que más incidencia tiene en vegetales y cultivos es *Botrytis cinerea*. Este patógeno prolifera cuando se presentan bajas temperaturas y alta humedad, siendo estas condiciones ambientales comunes en la zona sur de Chile.

Para la siguiente investigación se evaluará la incidencia del hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea* en el cultivo de lechuga.

## 2. HIPÓTESIS DE TRABAJO

La hipótesis planteada en la siguiente investigación es que los tratamientos presiembra, tanto el acondicionamiento osmótico como la exposición a campos magnéticos, inducen variabilidad sobre la ontogenia y crecimiento de las plantas de lechuga y también en la respuesta de la planta ante *Botrytis cinerea*.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo general de esta investigación:

- Determinar el efecto de tratamientos en presiembra (exposición a campos magnéticos y acondicionamiento osmótico) en semillas de lechuga de las variedades Justine y Grand Rapid respecto a su desarrollo, crecimiento y respuesta ante *Botrytis cinerea* en invernadero durante la temporada de verano e invierno.

#### 3.2. Los objetivos específicos son los siguientes:

- Determinar el efecto del PEG-6000 como acondicionador osmótico en semillas sobre las dinámicas germinativas, vegetativas y reproductivas.
- Determinar el efecto del *Magnetopriming* en semillas sobre las dinámicas germinativas, vegetativas y reproductivas.
- Evaluar la respuesta de las plantas de lechuga cv. Justine y Grand Rapid acondicionadas osmóticamente o a través de su exposición a campos magnéticos ante la presencia de *Botrytis cinerea*.
- Determinar el efecto de la época del cultivo sobre el comportamiento ontogénico y fitopatológico en plantas provenientes de semillas acondicionadas por el método osmótico y magnético.



## 4. METODOLOGÍA

### 4.1. Ubicación y duración de los ensayos

La primera parte de los ensayos, referida a la aplicación de tratamientos en semillas, se llevarán a cabo en el Laboratorio de Fitotecnia del Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, en la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile, ubicada en la ciudad de Valdivia. Para la segunda etapa, los ensayos se realizarán en invernaderos ubicados en la Estación Experimental Agropecuaria Austral, perteneciente a la Universidad Austral de Chile, ubicada en la comuna de Valdivia (39°75` S; 73°20` W), región de Los Ríos, Chile. Para esta etapa del ensayo se utilizará también las instalaciones del Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Austral de Chile. Los ensayos de laboratorio se realizarán en los meses de diciembre de 2015 y mayo de 2016, mientras que los cultivos en invernadero se establecerán en la temporada estival de 2016 y otoño – invierno del mismo año.

### 4.2. Material vegetal

Para la siguiente investigación el material vegetal sólo es considerado un medio para lograr el objetivo de evaluar los efectos de los tratamientos presiembra. Como se mencionó anteriormente, los tratamientos presiembra pueden ser utilizados en variadas especies, tanto granos, leguminosas, hortalizas y plantas perennes.

El material que se utilizará para realizar esta investigación será lechuga (*Lactuca sativa L.*). Esta hortaliza fue elegida debido a que es una de las más producidas en el sur de Chile y también, por la poca duración de su ciclo de cultivo.

Se utilizarán dos cultivares distintos de lechuga, el cv. Justine, que pertenece al tipo de lechugas comúnmente llamada “lechugas españolas o mantecosas”. Este cultivar ha sido utilizado anteriormente en investigaciones de la Universidad Austral de Chile y se han obtenidos buenos resultados de adaptabilidad. Grand Rapid es una lechuga crespa,

de rápido crecimiento y habitualmente es utilizada por los productores de la zona de Valdivia.



**FIGURA 9** Variedades de lechuga a utilizar; Justine (izquierda), Grand Rapid (derecha).

#### **4.3. Ensayos en Laboratorio**

**4.3.1. Método de acondicionamiento osmótico.** Según el protocolo el método de acondicionamiento osmótico debe realizarse manteniendo las semillas por 48 horas a una temperatura de 9°C en condiciones de oscuridad. Una vez transcurrido este tiempo las semillas deben ser enjuagadas y secadas. El proceso de secado se realizará por 2 horas a una temperatura de 32°C con HR de 25 – 30%. Una vez finalizado esto se mantienen por 2 días a 9°C con 30% de humedad relativa (Heydecker *et al.*, 1973 citado por SCHWEMBER y BRADFORD, 2010). Según NASCIMENTO (2004), la solución osmótica debe permanecer en contante aireación. Para tal efecto las semillas serán aireadas constantemente mediante una bomba de aire.

Para este ensayo se utilizarán 320,3 g de PEG, lo que equivale a un potencial osmótico de -12,5 KPa a una temperatura de 20°C homologando el protocolo propuesto por Heydecker (1973).

Luego, las semillas serán almacenadas en sobres asegurando su estado seco y una temperatura de 5°C hasta el momento de los ensayos.



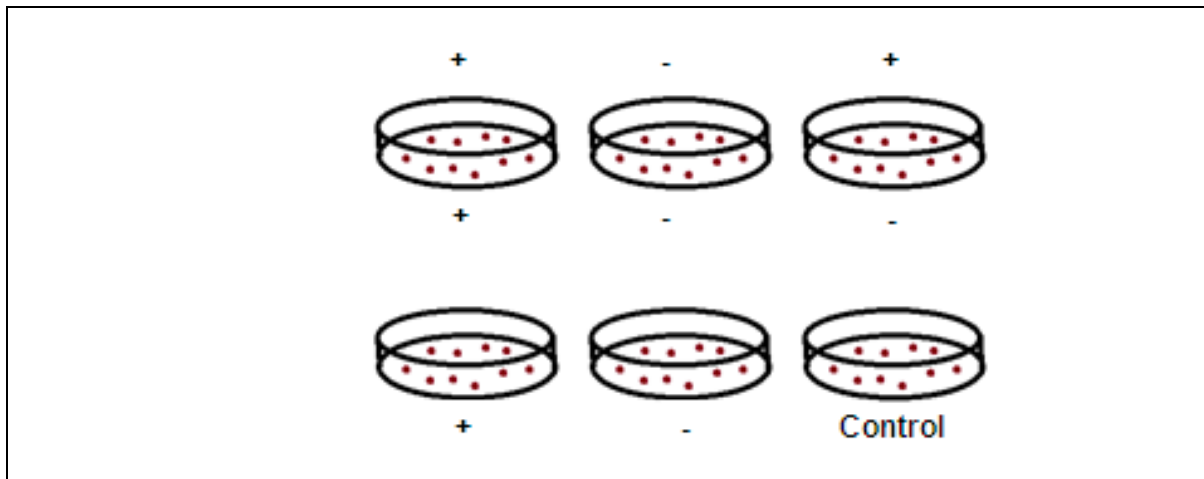
**FIGURA 10 Disposición ensayo PEG-6000.**

#### **4.3.2. Exposición de semillas a campos magnéticos estacionarios.**

**4.3.2.1. Magnetización de semillas.** Las semillas de lechuga serán hidratadas con agua destilada durante 1 hora (Aladjadjiyan, A. 2010) y expuestas a campos magnéticos estacionarios durante 30 minutos.

Las semillas se dispondrán en el centro de una placa Petri de 6cm de diámetro. Los magnetos a utilizar serán de 2 cm de diámetro y 5mm de alto con una intensidad de 0,250T, lo que corresponde a una dosis de  $4,48 \text{ MJ m}^{-3} \text{ s}$ .

**4.3.2.2. Primer ensayo MP.** Las semillas serán expuestas a distintas combinaciones de campos magnéticos. Se realizarán 5 combinaciones de polos (++, +-, --, +, -) más un control, con 3 repeticiones cada uno. Esto se realizará con la finalidad de estimar cual es la mejor combinación de magnetos. En la FIGURA 8 se muestra la disposición de los campos magnéticos con respecto a la placa con semillas de lechuga.



**FIGURA 11** Tratamientos que serán utilizados para magnetizar semillas de lechuga, variando la disposición de los campos magnéticos.

Se determinará el mejor tratamiento de los 6 anteriormente expuestos. El tratamiento que presente mayor tasa de germinación será el que se establecerá luego en invernadero. Se utilizarán 100 semillas por cada placa según normas ISTA.

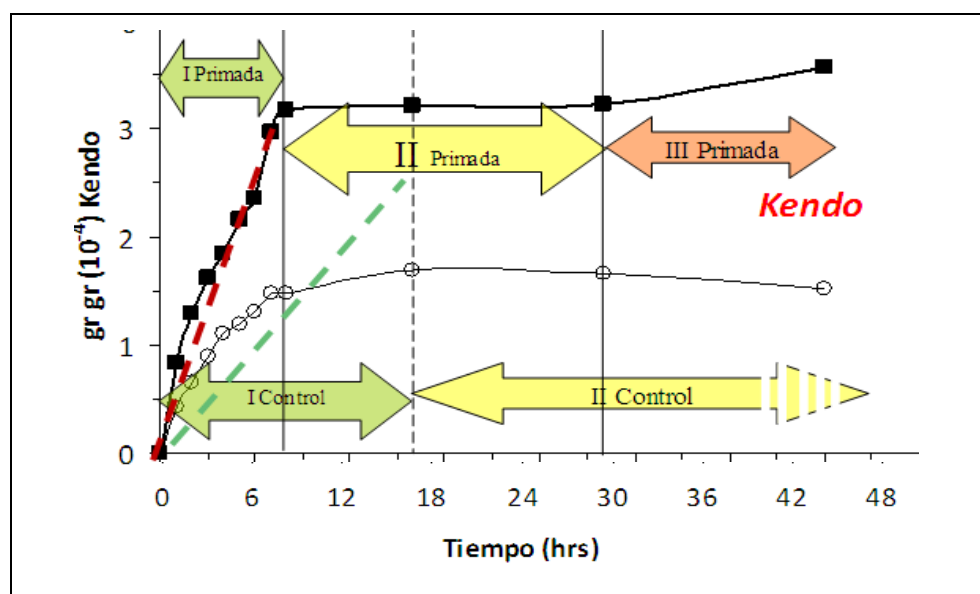
- 4.3.3. Cámaras de germinación.** La germinación de las semillas se realizará de acuerdo a las normas ISTA (1996). La temperatura de germinación ideal para lechugas es de 20°C en cámara de germinación durante 7 días. La germinación de las semillas se realizará en placas con 100 semillas dispuestas sobre papel filtro.
- 4.3.4. Evaluación de germinación.** Se medirá el tiempo necesario para que germinen el 1, 10, 25, 50 y 75% de las semillas utilizadas en cada tratamiento ( $T_1$ ,  $T_{10}$ ,  $T_{25}$ ,  $T_{50}$  y  $T_{75}$ ) (Carbonell *et al.*, 2005). El tiempo medio de germinación (TMG) se obtendrá mediante la siguiente ecuación:

$$TMG = \frac{\sum n_i t_i}{\sum n_i} \quad \text{Ec. 2}$$

Donde  $t_i$  es el tiempo entre la siembra y la medición y  $n_i$  corresponde al número de semillas germinadas en el periodo de  $t_i - t_{i-1}$ .

Se estimará el periodo desde la siembra hasta que empieza el período de germinación, pudiendo determinarse así la velocidad en la que se inicia el proceso de germinación.

**4.3.5. Imbibición.** Se realizará un análisis de imbibición de las semillas para estimar el vigor de las mismas. Se medirá la tasa de imbibición ( $\text{g agua g}^{-1}$  semilla) de 20 semillas para cada uno de los tratamientos (AO y MP). Cada medición se realizará cada 1 hora durante las primeras 6 horas de imbibición y luego cada 5 horas durante 48 horas. Se espera obtener una curva como la que se muestra en la FIGURA 11, donde se realizaron mediciones de imbibición para semillas de lechuga acondicionadas osmóticamente. En la FIGURA 11 se observa que las semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) acondicionadas tienen una tasa de absorción de agua mayor en las primeras 6 horas luego de comenzado el proceso de imbibición.



**FIGURA 12 Tasa de imbibición de semillas de lechuga var. Kendo acondicionadas osmóticamente con PEG-6000.**

FUENTE: Proyecto Explora, IPSV, UCh. (2012)

**4.3.6. Evolución de germinación de semillas.** Durante el estudio en laboratorio se calculará la tasa de germinación de las semillas de lechuga para ambos tratamientos y su control. La germinación ocurrirá en cámaras de

germinación con luz permanente a 20°C durante 7 días. La evolución del proceso de germinación se registrará mediante la técnica de TIME-LAPSE. Esta técnica consiste en capturar varias fotografías a intervalos de tiempo determinados obteniéndose luego una secuencia de imágenes que se unen y pueden ser reproducidas en forma de video.

Utilizando esta técnica se registrará además la elongación de la radícula. Una vez obtenidas las fotografías se calculará el progreso de la elongación de la radícula de cada uno de los tratamientos.

Se tomarán fotografías cada 4 horas, obteniéndose así 6 fotografías diarias. Esto se realizará con una cámara fotográfica modelo CANON sx10.

#### **4.4. Ensayos en campo**

**4.4.1. Invernaderos.** Se utilizarán dos invernaderos distanciados a tres metros entre ellos con las mismas características de construcción, ambos del tipo túnel. Los invernaderos constan con una superficie cultivable de 100m<sup>2</sup> cada uno, siendo sus dimensiones 8 m de ancho, 3,5 m de alto y 12,5 m de largo. La estructura del invernadero está construida con hierro galvanizado y cubierta de polietileno tricapa de 180µm de espesor. La orientación de ambos invernaderos es de Este – Oeste.

Además cuentan con ventanas laterales de 9,5 m de longitud y 1,8 m de alto en ambos costados del invernadero (norte y sur) y ventanas cenitales de 4 m de ancho y 1,15 m de alto en ambos lados del invernadero (este y oeste). La ventilación se mantendrá al 75% mediante ventanas cenitales y laterales. La apertura de las ventanas se realizará de forma manual.



**FIGURA 13** Invernaderos a utilizar, invernadero 1 e invernadero 2.

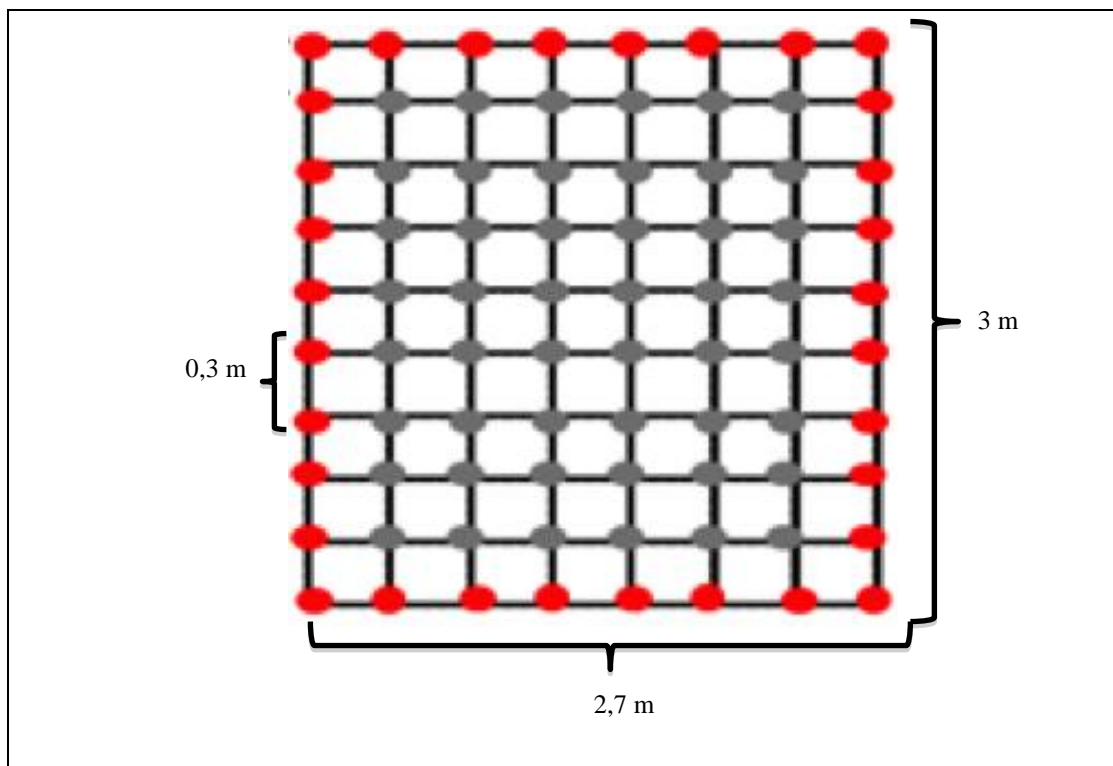
FUENTE: Google Earth.

#### **4.5. Almácigos**

Se realizarán almácigos con sustrato de turba y perlita en una proporción de 9:1 respectivamente. Se sembrarán 3 bandejas de 128 alveolos cada una por cada uno de los tratamientos para ambas variedades, considerando las pérdidas por germinación e impurezas. Para cada invernadero se considerarán 270 plantas que serán utilizadas para los muestreos. Los trasplantes se realizarán al estado de plántula (4 hojas verdaderas) en Enero de 2016 y Junio del mismo año.

#### **4.6. Establecimiento del cultivo.**

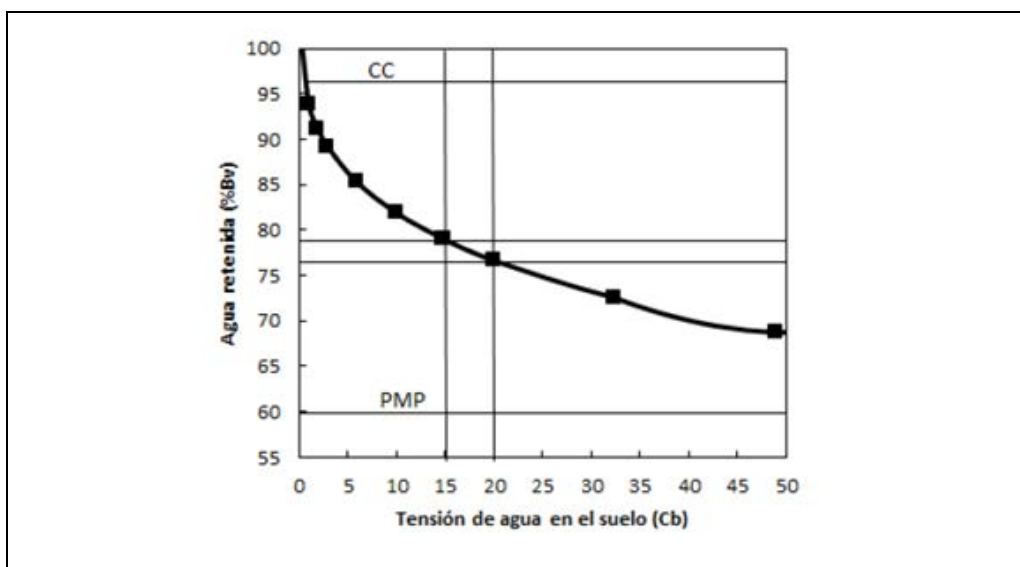
**4.6.1. Marco de plantación.** Se establecerán parcelas de 1,5 x 2,7 m con una distancia de plantación de las lechugas de 30 cm entre y sobre hilera. Cada parcela tendrá 45 plantas y en cada invernadero habrá un total de 6 parcelas.



**FIGURA 14** Marco plantación de lechugas en cada una de las parcelas.

- 4.6.2. Fertilizaciones.** Se realizará un análisis de suelo para determinar el suministro del suelo y la dosis de fertilizante a aplicar.
- 4.6.3. Riego.** El riego se realizará mediante la instalación de un tensiómetro en el centro de cada invernadero. En la figura 12 se muestra la curva de retención de agua de los suelos de los invernaderos que se utilizarán para la investigación. En la figura se muestra que la capacidad de campo del suelo comienza con un 96% de los poros saturados. Al disminuir en un 17% el agua retenida en los poros, se alcanza una tensión de 15 a 20 Cb, estableciéndose un criterio de 20 Cb para la frecuencia de riego. Se realizará mediante riego por cinta con una oferta de  $4 \text{ L H}^{-1} \text{ m}^{-1}$ .





**FIGURA 15** Curva retención de agua (CC: capacidad de campo; PMP; marchitez permanente), suelo Estación Experimental Agropecuaria Austral.

FUENTE: Beluzán, 2012.

#### 4.7. Parámetros a registrar

Se registrarán datos de temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) y humedad relativa (%). Estos datos serán medidos con un datalogger (LASCAR ELECTRONICS UK, modelo EL-USB-2-LCD) que será ubicado en la mitad de cada invernadero a 30 cm sobre el cultivo.

#### 4.8. Parámetros a calcular: Biomasa

**4.8.1. Tasa de crecimiento.** Durante el desarrollo del cultivo en invernadero se calculará la tasa de crecimiento (g/día) de las plantas de lechuga para ambos tratamientos y el control, midiendo la MS acumulada entre cada estado fenológico del cultivo.

**4.8.2. Duración del ciclo del cultivo.** Mediciones diarias de temperatura del invernadero mediante el datalogger se utilizarán para estimar la duración del ciclo del cultivo en grados día acumulados (GDA). Para el cálculo se considerará una temperatura base para el cultivo de lechugas de  $5^{\circ}\text{C}$  y se utilizará la ecuación 3 (Baker y Reddy 2001; Holen y Dexter 1996; Yang et al., 1995 citado por INFANTE, 2010) que se muestra a continuación.

$$Tiempo\ térmico = \sum (T^{\circ} - T^{\circ}\ base)$$

Ec. 3

donde  $T^{\circ}$  es la temperatura media diaria registrada cierto día,  $T^{\circ}$  base corresponde a la temperatura base del cultivo de lechugas ( $5^{\circ}\text{C}$ ).

#### 4.9. Parámetros a medir

Cada una de las mediciones se realizará en función a la fenología del cultivo. Las etapas fenológicas en las cuales se realizarán los muestreos son: Plántula (4 hojas verdaderas), roseta, madurez de consumo y senescencia. Se consideran las etapas anteriormente mencionadas según la escala BBCH (2001).

**4.9.1. Materia seca.** Se medirá la materia seca ( $\text{g m}^2$ ) acumulada en cada etapa fenológica del cultivo, comenzando desde estado de plántula. La medición se realizará manteniendo la muestra en un horno con aire caliente a  $100^{\circ}\text{C}$  entre 24 y 48 horas hasta alcanzar peso constante.

**4.9.2. Materia verde.** Se medirá la materia verde acumulada en cada una de las etapas fenológicas del cultivo comenzando desde estado de plántula.

**4.9.3. Largo de la raíz (cm).** Se medirá el largo de la raíz entre cada estado fenológico del cultivo de lechugas.

**4.9.4. Incidencia de *B. cinerea*.** Se evaluará la incidencia del hongo fitopatógeno *B. cinerea* mediante la siguiente ecuación.

$$\text{Incidencia de } B. cinerea = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ Plantas enfermas}}{\text{N}^{\circ} \text{ Total de plantas}} \times 100 \quad \text{Ec. 4}$$

Los muestreos de las plantas se realizarán cada 7 días, considerando como plantas enfermas aquellas que presenten signos y síntomas evidentes de la enfermedad.

#### 4.10. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos en los ensayos de laboratorio, tanto del ensayo de disposición de campos magnéticos, germinación y de vigor, serán analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) con una significancia al 5% ( $\alpha = 0,05$ ). De existir diferencias entre las mediciones se realizará un test de Tukey.

Para los ensayos en invernadero se realizará un análisis de varianza ( $\alpha = 0,05$ ) con un arreglo factorial de  $2 \times 2 \times 3$  en bloques completamente al azar. Se considerarán como el primer factor las variedades de lechuga (Justin y Grand Rapid), como segundo factor la época de cultivo (verano e invierno) y como tercer factor los tratamientos de acondicionamiento osmótico (AO), *Magnetopriming* (MP) y el control.

Se estudiarán las interacciones entre cada una de las variables, y en el caso de que la prueba de ANOVA resulte significativa, se realizará un análisis de diferencias múltiples (Tukey).

La unidad experimental a utilizar será de 1 metro lineal de cultivo, es decir de 3 plantas de lechuga por cada repetición.



## 6. RECURSOS DISPONIBLES

Para la investigación se utilizarán tres lugares de trabajo, los cuales pertenecen a la Universidad Austral de Chile y ubicados en Valdivia, Región de Los Ríos. Estos lugares son los laboratorios, tanto de Fitotecnia como de Fitopatología, y la Estación Experimental Agropecuaria Austral. La iniciativa será financiada en parte por un Proyecto DID-UACH 2014, recientemente adjudicado en favor del Director de esta tesis.

En el laboratorio de Fitotecnia se dispone de:

- Cámara de germinación.
- Material de laboratorio: Placas Petri, lupas, pinzas, papel filtro, bombas de pecera, PEG – 6000.
- Invernadero de vidrio para la preparación de almácigos.
- Sustrato para los almácigos de turba y perlita (9:1)
- Bandejas plásticas de speedling de 128 alveolos.

En el laboratorio de Fitopatología se dispone de:

- Cámara de flujo laminar.
- Estufas para incubación.
- Microscopios ópticos.
- Material de laboratorio: Hazas de siembra, matraces, mechero, placas Petri, porta y cubre objeto.

En la Estación Experimental Agropecuaria Austral se dispone de:

- Invernaderos de polietileno (2), con una superficie de 100m<sup>2</sup> cada uno.
- Tensiómetro.
- Implementos para preparación de suelo: vibrocultivador, bombas fumigadoras de espalda y palas.
- Riego tecnificado no automatizado (riego por cinta).

Las semillas de lechuga variedad Justine serán obtenidas de la empresa Alliance LTDA, mientras que las semillas de la variedad Grand Rapid provienen de la empresa ANASAC.

## 7. RECURSOS SOLICITADOS

ITEM	AÑO 1	TOTAL
<b>PERSONAL</b>		
Honorarios **	\$0	\$0
Viáticos	\$0	\$0
<b>1. Total Personal (Honorarios + Viáticos)</b>	<b>\$0</b>	<b>\$0</b>
<b>GASTOS</b>		
Pasajes*	\$364.000	\$364.000
Operación	\$0	\$0
<b>2. Total Gastos (Pasajes + Operación)</b>	<b>\$364.000</b>	<b>\$364.000</b>
<b>3. BIENES DE CAPITAL</b>	<b>\$0</b>	<b>\$0</b>
<b>TOTAL SOLICITADO (1 + 2 + 3)</b>	<b>\$364.000</b>	<b>\$364.000</b>

(\*) Incluye solamente recursos para salidas a terreno o transporte por actividades del proyecto.

(\*\*) Sólo se pueden cancelar honorarios a personas no contratadas por la UACH.

## 8. JUSTIFICACIÓN RECURSOS SOLICITADOS

En el ítem de gastos se solicita un total de \$364.000, especificados a continuación:

1. Pasajes:
  - Se considerarán viajes diarios a la Estación Experimental Agropecuaria Austral durante la temporada de verano e invierno, por concepto de transplante, manejo de riego y ventilación de invernaderos. Por viaje se gastarán \$2000 y se considera un promedio de 61 viajes en la temporada de verano y 121 viajes en la temporada de invierno, lo que generará un total de \$364.000 utilizados en bencina para un automóvil.



## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G. 1995. Fitopatología. Limusa, México. 2<sup>a</sup>. Ed. pp: 419 – 423.
- ALADJADJIYAN, A. 2007. The use of physical methods for plant growing stimulation in Bulgaria. *Journal Central European Agriculture* 8(3): 369 – 380.
- ALADJADJIYAN, A. 2010. Influence of stationary magnetic field on lentil seeds. *Int. Agrophys.* 24: 321 – 324.
- BELUZAN, F. 2012. Deficit de Presión de Vapor (DPV) y factores microclimáticos, como herramientas de pronóstico de *Botrytis cinérea* Pers. Ex Fr., en *Lactuca sativa* L. bajo invernadero. Tesis de Magister, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile.
- BEWLEY, J.D., BLACK, M. 1982. *Physiology and Biochemistry of Seeds in Relation to Germination*. Springer – Verlag, Berlin Heidelberg. 6: 320 – 323.
- BHARDWAJ, J., ANAND, A., NAGARAJAN, S. 2012. Biochemical and biophysical changes associated with magnetopriming in germinating cucumber seeds. *Plant Physiology and Biochemistry* 57: 67 – 73.
- BONINA, J., CANTLIFFE, D., STOFFELLA, P., HUBER, D. 2007. A rapid and inexpensive test for determining optimal hydrothermal timing for priming lettuce seed. *Seed Technology (EE.UU)* 29 (1): 37 – 49.
- CAKMAK, T., CAKMAK, Z., DUMLUPINAR, R., TEKINAY, T. 2012. Analysis of apoplastic and symplastic antioxidant system in shallot leaves: Impacts of weak static electric and magnetic field. *Journal of Plant Physiology* 169: 1066 – 1073.
- CALDERON, M.L., SAN MARTIN, M.F., BARBOSA – CÁNOVAS, G., SWANSON, B. 1999. Métodos no térmicos para procesamiento de alimentos: Variables e inactivación microbiana. *Brazilian Journal of Food Technology* 1 (1,2): 3 – 11.

- CARBONELL, M.V., MARTINEZ, E., AMAYA, J.M. 2000. Stimulation of germination in rice (*Oryza sativa* L.) by a static magnetic field. *Electro and magnetobiology*, 19(1): 121 – 128.
- CARROZZI, L., CREUS, C., BARASSI, C., MONTERUBBIANESI, G., BENEDETTO, A. 2012. Reparation of aged lettuce (*Lactuca sativa*) seeds by osmotic priming and *Azospirillum brasilense* inoculation. *Botany* 90 (12): 1093 – 1102.
- CARVAHLO, M., DOS SANTOS, D., DOS SANTOS, L., FONTES, E. 2005. Germination and vigour of primed Asparagus seeds. *Scientia Agricola (Brasil)* 62 (4): 319 – 324.
- CHILE, FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA (FIA). 2009. Técnicas de producción hortícola en el sur de Chile. Manuales FIA a la formación de recursos humanos para la innovación agraria. Santiago, Chile. 174p.
- CHILE, INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICAS (INE). 2012. Informe de cultivos de hortalizas: Superficie sembrada o plantada de hortalizas. (On line). Estadísticas agropecuarias. <[http://www.ine.cl/canales/chile\\_estadistico/estadisticas\\_agropecuarias/estadisticas\\_agricolas/agricolas.php](http://www.ine.cl/canales/chile_estadistico/estadisticas_agropecuarias/estadisticas_agricolas/agricolas.php)> (3 oct. 2013)
- CHILE, OFICINA DE ESTUDIOS Y POLÍTICAS AGRARIAS (ODEPA). 2013. Superficie cultivada con hortalizas 2007 – 2012. (On line). Estadísticas de hortalizas. <<http://www.odepa.gob.cl/menu/MacroRubros.action;jsessionid=430D4E0350E1581F7BBF64BFC8F8DFBA?rubro=agricola&reporte=>>> (3 oct. 2013)
- CIAMPI, L., RADIC, S., ALVAREZ, E. 2006. Patología vegetal micológica. Valdivia, Chile. pp: 153 – 155.
- DE SOUZA, A., GARCIA, D., SUEIRO, L., GILART, F., PORRAS, E., LICEA, L. 2006. Pre – Sowing Magnetic Treatments of Tomato Seeds Increase the Growth and Yield of Plants. *Bioelectromagnetics* 27: 247 – 257.
- DE SOUZA, A., GARCIA, D., SUEIRO, L., GILART, F., PORRAS, E., LICEA, L. 2006. Pre-Sowing Magnetic Treatments of Tomate Seeds Increase the Growth and Yield of Plants. *Bioelectromagnetics* 27: 247 – 257.

- DE SOUZA, A., PORRAS, E., CASATE, R. 1999. Efecto del tratamiento magnético de semillas de tomate (*Lycopersicon Esculentum* Mill) sobre la germinación y el crecimiento de las plántulas. *Invest Agr Prod Prot Veg* 14(3): 67 – 74.
- DELL'AMICO, J., MORALES, C., POLON, C. 2008. Inducción de respuestas adaptativas en el arroz (*Oryza sativa* L.) para su cultivo en condiciones de salinidad moderada. *Cultivos tropicales (Cuba)* 29 (4): 61 – 66.
- DHAWI, F. 2014. Why Magnetic Fields are Used to Enhance a Plant's Growth and Productivity?. *Annual Research & Review in Biology* 4(6): 886 – 896. Elsevier. Amsterdam, Netherlands. 20: 17 – 69
- FUENTES, V. 2010. Dinámica intercensal de la horticultura en la provincia de Valdivia, Región de Los Ríos, 1997 – 2007. Tesis Lic. Agr. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 107p.
- GAETE, N., VILLAR, J.M., ACUÑA, R. 2012. Comparación de la radiación solar estimada vs registrada en estaciones agrometeorológicas de Chile: sub y supraestimaciones. 64° Congreso Sociedad Agronómica de Chile, XXII Congreso Chileno de Fitopatología. Viña del Mar, Chile.
- GUBBELS, G. 1975. Emergence, seedling growth and yield of sweet corn after pregermination at high temperature. *Canadian Journal of Plant Science* 55: 995 – 999.
- HARRIS, D. 2006. Development and Testing of “On-Farm” seed priming. *Advances in Agronomy* 90: 129 – 178.
- HEWITT, P. 2004. Física conceptual. Novena edición. Colegio de la ciudad de San Francisco. PEARSON EDUCACION, MEXICO, 2004. pp: 458 – 474.
- HEYDECKER, W., GIBBINS, B. 1978. The “priming” of seeds. *Acta horticultrae* 83: 213 – 224.
- HOSEINI, M., MIRSHEKARI, B., BABAZADEH-IGDIR, H. 2013. Influence of Biophysical Priming on Seed Germination and Yield on Two Landraces of Lemon-Balm (*Melissa officinalis* L.). *Not Sci Biol*, 5(2): 238 – 243.
- HUSSEIN, H., HAIL, R., JABAIL, W. 2012. Effect of Magnetic Field on Seed Germination of Wheat. *Walailak J Sci & Tech*; 9(4): 341 – 345.

- INFANTE, P. 2010. Determinación y efecto del tiempo térmico sobre el comportamiento fisiológico de la remolacha azucarera (*Beta vulgaris* L. spp. *Vulgaris*) en la región del Alto Chicamocha. Tesis Magister en Ciencias Agrarias con énfasis en Fisiología de Cultivos, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia. 128p.
- JANMOHAMMADI, M., DEZFULI, P., MOHAMMADI, H., SHARIFZADEH, F. 2007. Influence of different osmopriming treatments on seed germination of tomato and lettuce. *Journal of research in agricultural science* 3 (1): 37 – 44.
- KORNARZYNSKI, K., PIETRUSZEWSKI, S. 1999. Effect of the stationary magnetic field on the germination of wheat grain. *Int. Agrophysics* 13: 457 – 461.
- LIBOFF, A., JENROW, K. 2000. Cell sensitivity to magnetic fields. *Electro and Magnetobiology* 19 (2): 223 – 236.
- MADUKAKKUZHYIL, S., KADUR, G., ANAND, A. 2011. Superoxide radical production and performance index of Photosystem II in leaves from magnetoprimed soybean seeds. *Plant Signaling and Behavior* 6 (11): 1635 – 1637.
- MAQUEDA, R. 2008. Efecto de la exposición a campos magnéticos estacionarios de 125 mT y 250 mT en germinación de semillas de guisante. *Actas de I Congreso de estudiantes Universitarios de Ciencia, Tecnología e Ingeniería Agronómica*. Madrid, España. pp: 93 – 96.
- MORA, R., RODRÍGUEZ, J., PEÑA, A., CAMPOS, D. 2004. Acondicionamiento osmótico de semilla de papa (*Solanum tuberosum* L.) con soluciones salinas. *Revista Chippingo Serie Horticultura* 10 (1): 15 – 21.
- NAGY, P. 2005. The effect of low inductivity static magnetic field on some plant pathogen fungi. *Journal Central European Agriculture* 6 (2): 167 – 171.
- NASCIMENTO, W. 2004. *Condicionamento Osmótico de Sementes de Hortaliças*. Embrapa, Basil. ISSN 1415-3033.
- PARERA, C., CANTLIFFE, D. 1994. Presowing seed treatments to enhance supersweet sweet Corn seed and seedling quality. *Hortscience* 29 (4): 277 – 278.

- PIETRUSZEWSKI, S. 2014. Electromagnetic fields, impact on seed germination and plant growth. Encyclopedia of Earth Science Series. pp: 267 – 269.
- PILATTI, R.A., BOUZO, C.A. 2000. Efecto del bajado de plantas sobre la producción de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivado en invernadero. Inves. Agr.: Prod. Prot. Veg. Vol. 15 (1-2).
- PITTMAN, U.F., ORMROD, D.P. 1971. Biomagnetic responses in germinating malting barley. Canadian Journal of Plant Science. 51: 64 – 65.
- POBLETE, R. 1999. Efectos de la peletización y priming de semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum* M.) y lechuga (*Lactuca sativa*), bajo condiciones de invernadero y laboratorio. Tesis Ingeniero Agrónomo, Facultad Ciencias Silvoagropecuarias, Universidad Mayor. Santiago, Chile. 122p.
- REAL ACADEMIA ESPAÑOLA (RAE), 2013. Magnetismo.
- SÁNCHEZ, J., MEJIA, J., HERMANDEZ, A., CARBALLO, A., PEÑA, A. 2007. Acondicionamiento osmótico de semillas de cebolla (*Allium cepa* L.). Agricultura Técnica en México 33 (1): 63 – 71.
- SÁNCHEZ, J., MUÑOZ, B. Tratamientos pregerminativos de hidratación parcial de semillas. Una vía para incrementar la germinación bajo condiciones adversas de iluminación. Instituto de Ecología y Sistemática, La Habana, Cuba. 3p.
- SANCHEZ, J., ORTA, R., MUÑOZ, B. 2001. Tratamientos pregerminativos de hidratación – deshidratación de las semillas y sus efectos en plantas de interés agrícola. Agronomía Costarricense 25 (1): 67 – 92.
- SCHWEMBER, A., BRADFORD, K. 2010. A genetic locus and gene expression patterns associated with the priming effect on lettuce seed germination at elevated temperatures. Plant Molecular Biology 73: 105 – 118.
- SIVRITEPE, H., DOURADO, A. 1995. The effect of priming treatments on the viability and accumulation of chromosomal damage in aged Pea seeds. Annals of Botany 75: 165 – 171.

- SOCORRO, A., GARCIA, F., PINO, Y., DÍAZ, D. 2013. Stimulation of germination and growth in soybean seeds by stationary magnetic field treatment. *Asian J Agri Biol* 1 (2): 85 – 90.
- SZOPINSKA, D., TYLKOWSKA, K. 2004. Effects of osmopriming and fungicide treatment on germination, vigour and health of lettuce (*Lactuca sativa*) seeds. *Phytopathology (Polonia)* 31: 45 – 56.
- TANVIR, M., HAQ, Z., HANNAN, A., NAWAZ, M., SIDDIQUI, M., SHAH, A. 2011. Exploring the growth potential of *Albizia procera* and *Leucaena leucocephala* as influence by magnetic fields. *Turk J Agri For.* 36: 757 – 763.
- UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARIA., CHILE, COMISIÓN NACIONAL DE ENERGIA., CHILE, PROGRAMA DE LAS NACIONES UNIDAS PARA EL DESARROLLO., GLOBAL ENVIRONMENT FACILITY. 2008. Irradiancia solar en territorios de la República de Chile. Santiago de Chile. 249p.
- VASHISTH, A., NAGARAJAN, S. 2010. Effect on germination and early growth characteristics in sunflower (*Helianthus annuus*) seeds exposed to static magnetic field. *Journal of Plant Physiology* 167: 149 – 156.
- VON ZABELTITZ, C. 1999. Greenhouse Structures. Ecosystems of the world.
- YARI, L., SHEIDAIE, S. 2011. Effect of seed priming on seed germination's behavior of rice (*Oryza sativa* L.). *International Journal of AgriScience* 1 (1): 45 – 51.
- YEONOK, J., SEONGMO, K., JEOUNGLAI, C. 2000. Germination of carrot, lettuce, onion, and Welsh onion seeds as affected by priming chemicals at various concentrations. *Korean Journal of Horticultural Science and Technology* 18 (2): 93 – 97.
- ZAMIRAN, A., REZA, V., REZA, M. 2013. Seed germination enhancement of Zinnia (*Zinnia elegans*) using electromagnetic field. *Journal of Ornamental Plants* 3 (3): 203 – 214.