

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *Puya raimondii*
HARMS EN CONDICIONES DE LABORATORIO**

TESIS

PRESENTADA POR LA BACHILLER:

NORMA LUZ CHOQUECAHUA MORALES

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PUNO – PERÚ

2013

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA****GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *Puya raimondii* HARMS EN
CONDICIONES DE LABORATORIO****TESIS**

PRESENTADA POR LA BACHILLER:

NORMA LUZ CHOQUECAHUA MORALES

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

APROBADO POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE
: M.Sc. Gilmar Goyzueta Camacho**PRIMER MIEMBRO**
: Bigo. Herminio René Alfaro Tapia**SEGUNDO MIEMBRO**
: M.Sc. Dante Mamani Sairitupac**DIRECTOR DE TESIS**
: M.Sc. Alfredo Loza Del Carpio**ASESOR DE TESIS**
: M.Sc. Martha Aparicio SaavedraAREA: Ecología
TEMA: Diversidad Biologica

DEDICATORIA

Con mucho amor y gratitud dedico esta tesis a mi querida Madre Sra. Graciela Morales y a mi padre Humberto Choquecahua por todo el cariño, paciencia y comprensión en cada paso de mi vida y por todo el esfuerzo que hicieron para brindarme la educación que recibí.

A mis queridos hermanos Saúl, Javier y Nidwar quienes siempre estuvieron apoyándome tanto en mi formación personal como profesional.



AGRADECIMIENTOS

- ❖ A los docentes de la Facultad de Ciencias Biológicas quienes, además de brindarnos sus conocimientos en las aulas de ésta universidad, nos impartieron valores y ganas de aprender mucho más, muchas gracias por su gran labor que diariamente realizan para formar buenos profesionales.
- ❖ A los señores administrativos quienes siempre están dispuestos a colaborarnos en nuestro proceso de aprendizaje.
- ❖ A mi director de tesis Blgo. M.Sc. Alfredo Loza del Carpio y a mi Asesora Blgo.M.Sc. Martha Aparicio Saavedra por su acertada dirección, por brindarme su tiempo, apoyo y colaboración permanente durante todo el proceso de realización del presente trabajo de investigación por la cual les expreso mi mayor gratitud.
- ❖ A los miembros del jurado de tesis M.Sc. Gilmar Goyzueta Camacho, Blgo. René Alfaro Tapia y M.Sc. Dante Mamani Sairitupac por sus valiosas sugerencias y comprensión para la culminación del presente trabajo de investigación.
- ❖ Finalmente a mi madre, mis hermanos, mis amigos y compañeros que de una u otra forma hicieron posible la culminación del presente trabajo.

Norma Luz

ÍNDICE

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 ANTECEDENTES.....	3
2.2 MARCO TEÓRICO	10
2.2.1 CARACTERÍSTICAS BIOECOLÓGICAS DE <i>Puya raimondii</i>	10
2.2.2 LA REPRODUCCIÓN DE LAS PLANTAS.....	15
2.3 MARCO CONCEPTUAL.....	29
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
3.1 UBICACIÓN DEL ESTUDIO	31
3.2 MATERIALES.....	32
3.3 METODOLOGÍA.....	32
3.4 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	41
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	43
4.1 Efecto de la estimulación fisiológica y escarificación en la germinación de semillas de <i>Puya raimondii</i>	43
4.2 Efecto de la luz y temperatura en la germinación de semillas.....	53
V. CONCLUSIONES.....	68
VI. RECOMENDACIONES.....	69
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
ANEXOS.....	76

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Anatomía de una dicotiledónea y una monocotiledónea.	16
Figura 2. Inflorescencia de <i>Puya raimondii</i> extraída del rodal de Puyas.	34
Figura 3. Cápsulas de <i>Puya raimondii</i> seleccionadas para el ensayo.	34
Figura 4. Semillas seleccionadas para la siembra.	35
Figura 5. Sustrato y material biológico listo para el ensayo.	36
Figura 6. Semillas de <i>Puya raimondii</i> sembradas en placas petri.	37
Figura 7. Semillas de <i>Puya raimondii</i> germinadas.	38
Figura 8. Instalación de termómetros en cada tratamiento.	39
Figura 9. Disposiciones de luces fluorescentes por intensidad de luz.	40
Figura 10. Similitudes en el porcentaje de germinación.	44
Figura 11. Porcentaje de germinación en relación a los años 2010 y 2012.	47
Figura 12. Germinación media respecto al tratamiento de estimulación.	50
Figura 13. Tiempo de germinación acumulada hasta la 9 semana.	51
Figura 14. Diferencias entre porcentajes de germinación de temperatura.	54
Figura 15. Efecto de la intensidad de luz respecto al porcentaje de germinación.	57
Figura 16. Diferencias entre los tres tratamientos de temperatura.	59
Figura 17. Comportamiento de los tres tratamientos de temperatura.	60
Figura 18. Comportamiento de los tratamientos de intensidad de luz.	62
Figura 19. Diferencia entre los tres tratamiento de temperaturas.	64

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Medios de germinación.	19
Cuadro 2. Materiales para ambientes de luz.	23
Cuadro 3. Fito hormonas como estimulantes.	26
Cuadro 4. Potencia germinativa en tratamientos de estimulación.	43
Cuadro 5. Potencia germinativa semillas recolectadas en el año 2010 y 2012.	47
Cuadro 6. Análisis de varianza en porcentaje de germinación.	48
Cuadro 7. Germinación media en tratamientos de estimulación.	49
Cuadro 8. Germinación en tratamientos de recolección de semillas.	51
Cuadro 9. Resultados ANVA DBCA, año y estimulación.	52
Cuadro 10. Potencia germinativa en tratamientos de temperatura.	53
Cuadro 11. Separación de medias por el factor HDS de Tukey	56
Cuadro 12. Porcentaje de germinación de intensidades de luz.	56
Cuadro 13. ANVA DBCA con arreglo factorial 2x3x2 estimulación, T° y luz.	58
Cuadro 14. Germinación media en tratamientos de temperatura.	59
Cuadro 15. Separación de medias por el factor HDS de Tukey.	61
Cuadro 16. Germinación media en tratamientos de intensidad de luz.	61
Cuadro 17. ANVA DBCA con arreglo factorial 2x3x2 estimulación T° y luz.	63
Cuadro 18. Velocidad de germinación en tratamientos de temperatura.	64
Cuadro 19. Separación de medias por el factor HDS de Tukey.	66
Cuadro 20. Velocidad de germinación en tratamientos de intensidad de luz.	66
Cuadro 21. ANVA DBCA con arreglo con arreglo factorial 2x3x2 VG.	67

RESUMEN

Germinación de semillas de *Puya raimondii* Harms en condiciones de laboratorio. El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Cultivo de Tejidos *in vitro* de la Universidad Nacional del Altiplano. Los objetivos fueron: determinar el efecto de la estimulación por escarificación mecánica y fisiológica y el efecto de las condiciones ambientales (luz y temperatura) en la germinación de semillas de *Puya raimondii* en condiciones de laboratorio. La metodología consistió en recolectar semillas del rodal de puyas en el sector Bellavista de la provincia de San Antonio de Putina Puno en el año 2010 y 2012 a las cuales se provocó la germinación en placas petri utilizando sustrato de algodón para mantener la temperatura constante y se aplicó los siguientes tratamientos: dos tratamientos de estimulación por escarificación mecánica y fisiológica manteniendo las semillas a una temperatura de 60°C durante 24 horas y aplicación de 0.1g de ácido giberélico por unidad experimental y otra sin tratamiento de estimulación, se utilizó tres rangos de temperatura (10-17°C, 17-24°C y 24-31°C), y dos intensidades de luz (1000 lux y 2000 lux) como tratamiento de factores ambientales. Los resultados obtenidos demostraron que la dosis aplicada de ácido giberélico y el tratamiento de escarificación mecánica a las semillas de *Puya raimondii* no tuvieron efecto en la germinación entre los tratamientos, se obtuvieron porcentajes de germinación 75.56 % y 65.69% en tratamientos con y sin tratamiento respectivamente de igual forma el tiempo de germinación media fue de 31.94 días y 36.75 días en tratamientos con y sin tratamiento respectivamente donde no se encontraron diferencias significativas ($\alpha = 0.05; P > 0.05$) en los resultados. Los tratamientos de intensidad de luz a las que fueron sometidas las semillas no tuvieron diferencias significativas ($\alpha = 0.05; P > 0.05$) en la germinación de semillas de *Puya raimondii*, se obtuvo un porcentaje de germinación de 75%, tiempo de germinación media 36.58 días y velocidad de germinación de 38.06 días en el tratamiento de 1000 lux de intensidad; en el tratamiento de 2000 lux de intensidad de luz se obtuvo un porcentaje de germinación de 66.94%, tiempo de germinación media de 32.11 días y velocidad de germinación de 33.68 días. La temperatura fue un factor determinante en la germinación de *Puya raimondii* Harms. Resultando las temperaturas bajas 10 a 17°C como las más óptimas para germinar obteniéndose 88.54% de germinación de semillas (potencia germinativa), las semillas germinaron en menor tiempo (GM=19.85 días) a una velocidad de germinación de 20 días (VG=20.00 días). El rango de temperaturas moderadas 17-24°C tuvieron también alto porcentaje de germinación (77.39%), regular tiempo de germinación (GM=33.00 días) y velocidad de germinación (32.50) y el rango de temperatura 24-31°C presentó bajos porcentajes de germinación (64.79%) y tomaron mayor tiempo en germinar (GM=50.64 días) al igual que la velocidad de germinación que fue mucho más lenta (VG=50.54 días).

PALABRAS CLAVE: Germinación, *Puya raimondii*, semillas, temperatura, luz, estimulación fisiológica, ácido giberélico, escarificación mecánica.

I. INTRODUCCIÓN

Puya raimondii es la más grande bromeliácea del planeta, y en nuestra región tenemos el privilegio de poseerla. Presenta una forma de crecimiento paquicaule (gigante) lo que le proporciona un alto valor estético y científico, su inflorescencia cuenta con más de 6000 flores y aproximadamente 6 millones de semillas en un panículo floral de 6 a 8 metros de altura (Vadillo *et al.*, 2007) por lo que, además de ser un espectáculo impresionante de la naturaleza, se conforma un hábitat para muchas aves e insectos, pero su población y área de distribución ha estado reduciéndose progresivamente lo cual conllevó a ser declarada en peligro de extinción mediante Decreto Supremo N° 043-2006-AG.

En los rodales del centro poblado de Bellavista de la Provincia de San Antonio de Putina Puno, la población de puyas constituye alrededor de 4000 individuos (Zarate, 2006) y el mantenimiento de esta población se ve afectada por factores antrópicos pues los comuneros los queman y evitan su normal propagación debido a que ven a la planta como una amenaza para el ganado y como competencia por ganar espacio para el pastoreo. Otro factor importante que limita su desarrollo es su baja eficiencia de reproducción natural, pues la semilla es susceptible al ataque de hongos, aves y principalmente larvas de insectos que las utilizan como alimento, incluso en el momento de germinar por los variables cambios de temperaturas a lo largo del año, son también limitantes para su propagación el desarrollo lento que va aproximadamente de 1 cm por mes lo que hace que las plántulas no puedan resistir hasta alcanzar un tamaño adecuado para vigorizarse y lograr su supervivencia (Vadillo *et al.*, 2007).

Las semillas son las unidades de dispersión y reproducción por excelencia en las plantas, ellas permiten tanto la continuidad de la especie, mediante la reproducción sexual, como la posibilidad de introducir variabilidad genética de una generación a la siguiente. La semilla es, con frecuencia, un órgano de resistencia prácticamente inerte, hasta que se presenten las condiciones que le permitan iniciar su actividad y dar nacimiento a una joven planta. Este reinicio de actividad metabólica, que origina una nueva generación constituye el fenómeno de la germinación. La capacidad de las semillas para producir plántulas que se establezcan exitosamente en el campo, depende

de su calidad genética, física, fisiológica y fitosanitaria. Una buena germinación es el paso inicial e indispensable para lograr un establecimiento adecuado de la plantación, para ello es necesario tener el conocimiento de los factores externos y endógenos que regulan la germinación que son de importancia para el manejo de semillas. Es importante también para en un futuro participar de tareas de conservación que lleva consigo la multiplicación de las plantas de nuestro entorno propagándolas y obteniendo sus consiguientes beneficios, considerando además que estos organismos vivos son el fundamento de nuestra existencia sobre la Tierra.

Conociendo el bajo porcentaje de reproducción natural *in situ* de Puya y la poca información que hay en nuestro medio sobre la germinación de semillas de ésta especie así como los factores que influyen en las primeras etapas de su desarrollo es que consideramos importante estudiar ¿cómo afectan en la germinación de semillas de *Puya raimondii* factores como la estimulación fisiológica, escarificación mecánica, temperatura y luz en laboratorio, de esta manera determinar cuáles son las condiciones más adecuadas para la germinación de la semilla de *Puya raimondii*?. Para ello se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general:

- Evaluar el efecto de la escarificación mecánica, estimulación fisiológica y factores ambientales (luz y temperatura) en la germinación de semillas de *Puya raimondii*.

Objetivos específicos:

- Determinar el efecto de la escarificación mecánica y estimulación fisiológica en la germinación de semillas de *Puya raimondii* en condiciones de laboratorio.
- Determinar la influencia de los factores ambientales (luz y temperatura) en la germinación de las semillas de *Puya raimondii* Harms en condiciones de laboratorio.

II. REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA

2.1 ANTECEDENTES

Guevara *et al.* (1997) realizaron experimentos en el centro para investigaciones en granos y semillas de la universidad de Costa Rica, para determinar la influencia del contenido de humedad del sustrato sobre la capacidad germinativa de semillas de café caturra, para ello utilizaron semillas con y sin endocarpo sembrada en dos tipos de sustrato: arena y papel conteniendo 50, 75 y 100% de su capacidad de retención de agua. Evaluaron la imbibición y la germinación de las semillas en el tiempo así como velocidad de germinación, peso seco y fresco y la elongación de las plántulas. En ausencia del endocarpo los niveles de humedad del sustrato no influyeron sobre el proceso germinativo, por el contrario en presencia del endocarpo, niveles crecientes en el contenido de humedad del sustrato retardaron significativamente la germinación de las semillas. Tanto en ausencia como en presencia del endocarpo, la curva de imbibición de agua de las semillas mostró un comportamiento similar de aumento progresivo. La longitud del hipocótilo fue mayor en arena que en papel. Concluyeron que con altos niveles de humedad del sustrato, el endocarpo afecta la germinación de la semilla de café, al limitar la difusión de oxígeno hacia el embrión, lo que impide su crecimiento.

Renison y Cingolani (1998) realizaron experiencias de propagación con *Polylepis australis* Bitt en invernáculo y en las Sierras Grandes de Córdoba, con el fin de facilitar la recuperación de sus bosques mediante una reforestación. El porcentaje de germinación fue muy variable entre semillas provenientes de distintos individuos, y estuvo correlacionado positivamente con el grado de cobertura de *P. australis* del sitio donde se colectaron las semillas. No encontraron diferencias en la germinación entre los sustratos: arena, hojarasca, y tierra con arena, ni con la esterilización de estos. El tratamiento de las semillas con frío húmedo fue perjudicial. La propagación mediante estacas fue factible; la mejor época fue la primavera y el uso de enraizante no es recomendable. La supervivencia de los plantines trasplantados a su hábitat natural fue alta tanto para los producidos mediante semillas como para los de estaca, aunque el crecimiento de los plantines de semillas fue mayor al de los plantines de estaca.

Vadillo *et al.* (2004) indican que la germinación de las semillas de *P. raimondii* es dependiente de la luz siendo fotoblásticas positivas, Además las temperaturas altas (mayores a 21 °C) disminuyen el porcentaje de germinación, esta disminución de la viabilidad por el aumento de la temperatura impediría la reproducción natural. Las semillas presentan adaptaciones adecuadas para su dispersión: son numerosas, pequeñas (3 a 4 mm), livianas (0,48 mg/semilla), aladas y con alto porcentaje de germinación; sin embargo los daños ocasionados por las aves, hongos y larvas de polilla en la fructificación disminuye el número de semillas viables y vigorosas; además los requerimientos de la semilla para su germinación (luz, humedad y temperatura) limitan los microhabitats.

Pompelli (2004) hizo un estudio en el Laboratorio de Botánica Aplicada de la Universidad del Oeste de Santa Catarina Videira. En el año 2002 recolectó semillas de *Dyckia encholirioides* una bromelia considerada en estado vulnerable, catalogada como endémica en las regiones del centro-sur de Brasil. Debido a la importancia ecológica de esta especie, su trabajo describe una metodología para la germinación de semillas de *D. encholirioides*. El análisis de datos reveló que el frío disminuye el potencial de germinación, notó también que las semillas no tienen barreras cuando germinan *in vitro*, a diferencia de lo que ocurre en la naturaleza, que son otras barreras, probablemente de carácter físico que hace que sea imposible germinar.

Armijos (2005) hizo una evaluación de temperatura, fenoles y fotoperíodo sobre la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de *Cinchona pubescens* planta que se caracteriza por ser productora de quinina. Probó tratamientos pre-germinativos con calor para incrementar los porcentajes de germinación; en el proceso de imbibición cambió el agua en dos tiempos para eliminar fenoles que inhiben la germinación y evaluó la influencia del fotoperíodo en la germinación y crecimiento en plántulas de 40 días. Los resultados de la primera fase fueron que la temperatura no influye y es necesario un cambio de agua de imbibición, el fotoperíodo requirió de 6 a 12 horas/luz. Existió un alargamiento de los hipocótilos, además de etiolación en oscuridad; las plántulas expuestas a 24 horas /luz no presentaron alargamiento significativo. Las expuestas a 6 y 12 horas aunque no crecieron, presentaron desarrollo de yemas axilares.

Navarro y Demenegui (2007) trabajaron con el género *Mammillaria* destacada por su amplia distribución y su alto grado de endemismo cuyas poblaciones han disminuido debido al cambio de uso de suelo. Llevaron a cabo pruebas de germinación con diferentes tratamientos de escarificación de semillas y fueron sometidas a diferentes concentraciones de Agromil-plus (Citocinina-Giberelina-Auxina) para comparar el efecto en el crecimiento de las mismas. Durante dos meses y medio, cada 15 días registraron la altura de las plántulas. Los tratamientos de escarificación no favorecieron la germinación de esta especie ya que el mayor porcentaje de germinación (95%) la registró en las semillas que no fueron sometidas a escarificación. La altura de las plántulas después de la aplicación de la hormona en promedio fluctuó de 9.2 a 10.4 mm, los resultados mostraron diferencias significativas entre las concentraciones hormonales; sin embargo, las alturas obtenidas en las plantas no fueron mayores a las registradas en el testigo, esto implica que la aplicación de Agromil-plus en plántulas de *M.pectinifera* no es factible para acelerar su crecimiento.

Mendoza (2007) investigó las condiciones requeridas para la germinación y la interrupción de dormancia de la especie *Echinochloa colona* (L.) en el laboratorio de semillas del Programa de Recursos Genéticos Nicaragüenses, realizó: pruebas de viabilidad y germinación con semillas previamente secadas a temperatura de $60 \pm 10^{\circ}\text{C}$ por 48 horas y $130 \pm 10^{\circ}\text{C}$ por 4 horas. Además hizo un ensayo de interrupción de dormancia, para ello utilizó un diseño completamente al azar con arreglo bifactorial donde evaluó nueve tratamientos: Etanol (0.5 M) más luz roja continua, luz continua, estratificación más 5 segundos luz, estratificación más luz continúa, agua hirviendo, etanol (0.5 M), ácido sulfúrico, escarificación mecánica y un testigo. La tasa de germinación mostró que los mejores tratamientos que liberan de la dormancia a esta especie son: etanol (0.5 M) más luz roja continua y luz continua. La respuesta de las semillas de *Echinochloa colona* (L.) Link a los tratamientos de interrupción de dormancia con luz, determinaron que las semillas de esta especie son fotoblásticas o fotolátentes, además sugiere que la luz es un factor importante para la germinación de esta especie, y la respuesta a tratamientos con luz y escarificación química sugieren que la dormancia de esta especie es fisiológica leve. La presencia de dormancia en esta especie puede ser un mecanismo de sobrevivencia en los campos.

Reino *et al.*, (2008) determinó la temperatura óptima de germinación utilizando semillas frescas y envejecidas de las plantas arbóreas *Albizia lebbbeck*, *Gliricidia sepium* y *Bauhinia purpurea*, procedentes de la Estación Experimental de Pastos y Forrajes “Indio Hatuey”, Matanzas, Cuba, diseñó un experimento de clasificación simple y cinco réplicas para la respuesta germinativa a diferentes temperaturas del sustrato (constante a 25°C y tres alternas: 25/30°C, 25/35°C y 25/40°C). Antes de la siembra las semillas de *A. lebbbeck* escarificaron las semillas en agua a 80°C/2'. Para el patrón de imbibición las semillas colocaron sobre papel de filtro humedecido con agua destilada, según la temperatura óptima de germinación, en luz blanca fluorescente y en diferentes tiempos de imbibición. En las semillas frescas de todas las especies los mayores porcentajes de germinación final se obtuvieron a temperatura alterna de 25/35°C y en las envejecidas a 25/30°C.

Mápula *et al.* (2008) evaluaron algunos parámetros para determinar la calidad de semilla de poblaciones mexicanas de *Pseudotsuga menziesii*. También evaluó el efecto de la imbibición en peróxido de hidrógeno H₂O₂ a 1% y en diferentes períodos de estratificación de la semilla a 0-2°C para promover la germinación. Encontraron amplia variación en la viabilidad de la semilla con valores de 2 a 87% y en el porcentaje de embriones inmaduros, especialmente en poblaciones del centro del país, lo que probablemente se deba a niveles altos de autofecundación, cruzamiento de individuos relacionados genéticamente, o el secado de conos en condiciones no propicias. La semilla requiere de un período de imbibición de 17 horas con semillas cuyo porcentaje de humedad fue de 8.4%, este último valor es el recomendado para almacenar la semilla de esta especie. La imbibición en peróxido de hidrógeno H₂O₂ a 1% ayudó a lotes con buena viabilidad, pero sus valores mejoran si se estratifica la semilla en frío durante 31 días.

Cruz (2011) estudió la especie *Cupressus guadalupensis* S. Wats endémica de la Isla de Guadalupe, Baja California Norte, México. Esta investigación la realizó para conocer la calidad de la semilla producida por 24 árboles. Los conos fueron colectados, humedecidos y secados para posteriormente extraer la semilla. Estimó el contenido de humedad de la semilla secando la muestra en la estufa a 75 °C constantes; con los datos obtenidos de la prueba de germinación estimó los parámetros energía germinativa y capacidad germinativa. El contenido de humedad de la muestra fue de 21%. La

viabilidad promedio de la semilla por el método de flotación fue de 35.89 % y mediante el de sales de tetrazolio de 27.5 %. El promedio de energía germinativa fue de 3.62 % con un período de energía promedio de 13.04 días y el promedio de la capacidad germinativa fue de 8.22 %. Encontró diferencias significativas para viabilidad, para energía germinativa y capacidad germinativa. En general la semilla presentó valores bajos de las variables estudiadas dando a entender que la calidad de las semillas fue baja.

Sosa-Luria *et al.* (2012) evaluaron la viabilidad y capacidad germinativa de la semilla de seis especies del género *Tillandsia* (Bromeliaceae) recolectadas entre febrero y julio del 2010 en los bosques de Santa Catarina Ixtepeji, Oaxaca. Midieron la viabilidad mediante la prueba de rayos X y la germinación en una incubadora a temperatura constante de 25°C y fotoperíodo neutro. En ambas pruebas los tratamientos las distribuyeron en un diseño completamente al azar con un mínimo de seis repeticiones de 50 semillas. Analizaron los resultados con comparación múltiple de medias y una correlación de Pearson. Obtuvieron diferencias ($P < 0.05$) entre especies para porcentaje de semillas completas (viables o completamente desarrolladas) y de semillas con desarrollo incompleto. *Tillandsia violacea* presentó los más bajos porcentajes de semillas completas (61.3 %) y altos porcentajes de semillas con desarrollo parcial (31.6 %), en comparación con *T. prodigiosa*, *Tillandsia carlos-hankii*, *Tillandsia bourgaei*, *Tillandsia makoyana* y *Tillandsia fasciculata* que presentaron entre 68.3 y 89.0 % de semillas completas y entre 4.5 y 15.0 % de semillas parcialmente desarrolladas. *T. bourgaei* presentó el mayor porcentaje en su capacidad germinativa (83.3 %), seguida de *T. makoyana* (79.8 %), *T. carlos-hankii* (79.5 %), *T. prodigiosa* (75.8 %), *T. fasciculata* (45.0 %) y *T. violacea* (15.2 %). Hubo correlación positiva y significativa ($r = 0.69$, $P < 0.05$) entre los porcentajes de semillas completas y semillas germinadas.

Vaquero *et al.* (2006) trabajó con el nance (Malpigiaceae) árbol que se encuentra distribuido desde México hasta Perú, su germinación pobre de las semillas lo hace un cultivo difícil de propagar en vivero. Tuvieron como objetivo determinar la forma rápida de hacer germinar la semilla de una manera uniforme para su establecimiento en vivero. Los investigadores aplicaron 10 tratamientos térmicos y un tratamiento con ácido giberélico a 3,000 ppm más el testigo. Los tratamientos térmicos consistieron en remojar la semilla en agua hirviendo por 1, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 60 ó 180 segundos y

luego enfriarlos en agua. Realizaron cuatro repeticiones de 25 semillas por tratamiento. El ácido giberélico estimuló la germinación en vivero de la semilla obteniendo un porcentaje de germinación de 25% y el tiempo de germinación más corto de 45 días. El tratamiento con agua hirviendo de 3 segundos estimuló igualmente la germinación, dando un porcentaje de 16% y el tiempo de germinación más largo de 65 días. El resto de los tratamientos térmicos no tuvieron un efecto significativo para romper la latencia de la semilla.

El tratamiento de semillas con presencia de inhibidores químicos ha dado resultados más consistentes con la aplicación de giberelinas, sobre todo en semillas que exigen horas frío como las de los árboles de hoja caediza. Tuvieron resultados positivos con las siguientes plantas: chile piquín ácido giberélico de 500 a 1000ppm, camelia 100 a 500ppm, naranjo 1000 ppm y nogal 1000 ppm de ácido giberélico a razón de 300ppm en yuca aceleró la germinación a 150 ppm (Villalon y Soto, 1994 citado por Puga, 2000).

Klekailo *et al.* (2012) hicieron un estudio de *Bromelia serra* Griseb. (Bromeliaceae) hierba terrestre que habita en el sotobosque de bosques abiertos del Chaco y el Cerrado. En este trabajo analizaron el efecto de la temperatura, el clima lumínico y la escarificación sobre la germinación de semillas. Evaluaron dos regímenes de temperatura (15/20 °C y 20/30 °C), tres ambientes lumínicos (luz, filtro y oscuridad; 100% luz y 0.65 R:FR, 100% luz y 0.09 R:FR y sin luz respectivamente) y dos tratamientos de escarificación (escarificación durante 1 minuto con ácido sulfúrico H₂SO₄ al 30% y control sin escarificar). La temperatura fue un factor clave ya que solo registró germinación (una reducida fracción de las semillas y en forma lenta) en el tratamiento a 20/30 °C. Las semillas fueron indiferentes a la intensidad de luz, germinando tanto en condiciones de luz como de oscuridad. La calidad de la luz afectó la germinación, registrándose mayores porcentajes de germinación a altas relaciones R:FR. No detectaron efectos de la escarificación en la germinación de las semillas. Los resultados de este trabajo aportan información básica sobre la germinación de semillas, que resultan útiles para el manejo de la especie.

Amador *et al.* (2013) evaluaron el efecto de la adición de tres reguladores de crecimiento vegetal sobre la respuesta germinativa y crecimiento de plántulas en las especies *Ferocactus histrix* y *Ferocactus latispinus* (Cactaceae). las semillas fueron inducidas para germinar con la adición de diferentes concentraciones (125, 250, 500 ppm) de ácido indolacético (AIA), ácido naftalenacético (ANA) y ácido giberélico (AG₃) y tratamiento control. Los resultados demostraron diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P < 0.05$) en el porcentaje de germinación (%G) y caracteres morfológicos cuantitativos de plántulas de los tratamientos con reguladores de crecimiento vegetal y el control; así como un efecto negativo de los reguladores de crecimiento sobre la germinación y crecimiento de plántulas. Los porcentajes más altos de germinación (55-75%) en ambas especies de *Ferocactus* las registraron en el tratamiento control. El ácido indolacético AIA a una concentración de 125 ppm promovió 51% de germinación en *F. latispinus* al noveno día del experimento, un 62% de germinación se registró para *F. histrix* en el sexto día con 250 ppm de ácido naftanelacético ANA; mientras que el porcentaje de germinación más bajo (< 40%) se observó en ambas especies con 125 y 250 ppm de ácido giberélico AG₃. Concluye que la adición de reguladores de crecimiento vegetal no incrementa de manera significativa la germinación de semillas y tampoco favorece el crecimiento de plántulas, dado que las plántulas más vigorosas se obtuvieron con el control.

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1 CARACTERÍSTICAS BIOECOLÓGICAS DE *Puya raimondii*

a) Taxonomía (Wettstein, 1994)

Reino: Plantae.

División: Magnoliophyta.

Clase: Liliopsida.

Subclase: Commelinidae.

Orden: Poales.

Familia: Bromeliaceae.

Subfamilia: Pitcairnioideae.

Género: *Puya*.

Especie: *Puya raimondii* Harms.

Nombre vulgar: titanka, puya.

b) Características de los taxones

Familia Bromeliaceae

La familia está constituida como un grupo de más de 1900 especies de bromelias. Son xerofíticos terrestres o más frecuentemente epífitas se caracterizan por que absorben agua por las raíces, con escamas no especializadas y muy asociadas con los estomas para reducir la transpiración, las características anatómicas asociadas con este tipo primitivo de xeromorfismo incluye aguijones marginales, tejido acuífero bien desarrollado, oclusión estomática, capas escleróticas superficiales, reducción del tejido vascular y estructuralmente no especializadas con flores regulares o irregulares que por lo general presentan septos nectaríferos y ovario ínfero, flores polinizadas por insectos o pájaros y solo el género *Navia* es de polinización por el viento. Inflorescencia terminal; espigas racimos o panículas las flores axilares con brácteas coloreadas, flores bisexuales o raramente unisexuales, actinomorfas o zigomorfas, perianto de dos series: Una serie de 3 segmentos herbáceos como cáliz (sépalos); otra de 3 segmentos como corola, con pétalos libres o variablemente

connatos y muy coloreados, en algunos grupos nectarios prominentes. Estambres 6 en las bases de los pétalos libres o adnatos entre sí, el polen provee muy buen diagnóstico para caracterizar, un pistilo, el ovario súpero o ínfero con tres lóculos con rudimentos seminales numerosos, placentación axil en algunos bifurcada, estilo 1, con 3 estigmas, fruto una baya o cápsula frecuentemente envuelta en un periantio persistente, semillas con copioso endosperma y pequeño embrión (Montiel, 1991).

Subfamilia Pitcairnoideae

Un tercio de las especies de bromelias principalmente terrestres xerofíticas tienen ovario súpero, esto es por ser la familia más primitiva del grupo. Semillas aladas con dos largos apéndices polares membranáceas. Cápsulas septicidas y loculicidas, filodios armados e inermes (Montiel, 1991).

Esta subfamilia es representada por dos géneros más conocidos: *Pitcairnia* planta terrestre saxícola, inflorescencia simple o setón, se caracteriza por sus escapos florales salientes altos, donde el eje está largamente cubierto de flores sentadas. El género *Puya* en su mayoría son plantas muy altas, de crecimiento lento que viven en las alturas frías y ventosas principalmente de los Andes, *Puya raimondii* y *Puya chilensis* alcanzan de 8 a 10m en forma de pirámide con un penacho de hojas en la base en forma de círculo. Tienen espinas duras y encorvadas. Algunas de estas especies pueden alcanzar a vivir más de 100 años, terminada la inflorescencia después de ese tiempo comienzan a morir (Montiel, 1991).

Puya raimondii es una especie monocárpica que puede alcanzar hasta 15 m de alto con la inflorescencia; presenta un tallo erguido, simple, de hasta 6 m. de alto, y un diámetro de 0,6 m, con sus hojas dispuestas en roseta alrededor del tallo; su número cromosómico es 50 (2n). Desarrollo y floración: Esta especie se desarrolla a partir de semillas, las cuales requieren de luz y adecuadas condiciones de humedad para germinar (Vadillo *et al.*, 2004).

Desde el punto de vista anatómico las hojas de esta especie presentan una epidermis inferior cubierta completamente por tricomas pluricelulares de tipo peltado. Los estomas se ubican en depresiones en la epidermis inferior protegidos por estos tricomas. En corte transversal por hoja se observan los haces vasculares distribuidos

en forma paralela, característica común en las monocotiledóneas rodeadas por vainas de fibras esclerenquemáticas con alto contenido de lignina en sus paredes las que protegen los vasos floemáticos y xilemáticos (Montenegro *et al.*, citado por Apaza, 2005).

c) Distribución

Puya raimondii está distribuida en nuestro medio en los sectores de Piata en el distrito de Huancané; Watasani y Bellavista en la provincia de Putina que son los rodales de mayor población hasta 4000 ejemplares reportados en el año 2004, además de encontrarse en Lampa, Nuñoa, Melgar, Muñani y Azángaro (Goyzueta, 1999 citado por Apaza, 2005).

En el Perú el rango de distribución está restringida a las zonas andinas en forma de rodales entre 3300 a 4300 m de altitud y prolongándose hasta Bolivia. *Puya raimondii* se encuentra en rodales desde pocos ejemplares a varios centenares, en los Andes del centro (La Libertad, Huaraz, Lima) y sur (Apurímac, Ayacucho, Cuzco, Junín, Huancavelica) del país y en Bolivia y se distribuye en las zonas de vida de Bosque Húmedo montano, Estepa Montana y Páramo muy húmedo Sub-tropical (Rivera 1985, Gómez y Miranda, 1998 citado por Vadillo y Suni, 2005).

Actualmente, en Bolivia sólo se puede encontrar en el cerro Comanche (La Paz) y en la cordillera de Vacas, provincia Arani (Cochabamba), sobre un área de un kilómetro cuadrado a una altitud entre los 3800 y 4200 metros sobre el nivel mar (Martínez y Altamirano, 2009).

d) Hábitat

Puya raimondii se encuentra en rodales en desarrollo en el departamento de Puno a una altitud de 3800 a 4500 m.s.n.m. en suelos con pendientes de 40° de suelo pedregoso o rocoso y áridos (Goyzueta, 1999 citado por Apaza, 2005). Preferentemente se encuentran en las laderas de los cerros con exposición al noreste y noroeste, donde hay mayor radiación solar; preferentemente en terrenos rocosos o pedregosos con pendientes moderadas a muy fuertes (Villiger, 1981; Venero, 1984; Rivera, 1985 citados por Vadillo, 2006).

La preferencia de *Puya raimondii* por lugares rocosos se debe a tres motivos: Un terreno rocoso ofrece dificultad para su aprovechamiento por pastoreo. La protección mecánica que brindan las rocas contra los fuertes vientos, especialmente a las plantas tiernas. Las rocas al tener un menor contenido de agua que el suelo, tienen menores calores específicos calentándose por el sol más rápidamente favoreciendo el pronto derretimiento de la nieve y el granizo, irradiando el calor hacia la planta, lo que trae como consecuencia que las horas de sol sean mejor aprovechadas y haya mayor fotosíntesis (Rivera, 1985 citado por Vadillo, 2006).

e) Crecimiento y desarrollo.

La puya presenta la floración más grande del mundo que se da a los 70 años, después de la cual la planta muere (Goyzueta, 1999 citado por Apaza, 2005). *Puya raimondii* Harms (Bromeliaceae) es una planta monocárpica que puede producir entre 6 y 12 millones de semillas, sin embargo, es muy raro encontrar plántulas en su hábitat natural (Smith y Downs 1973 citado por Vadillo, 2006). Uno de los factores que influyen en el crecimiento de las plántulas de Bromeliáceas es la disponibilidad del agua. Los sustratos generalmente usados son las mezclas de musgo, turba y grava (Vadillo, 2006).

La turba resulta ser un sustrato con características adecuadas para el establecimiento de plántulas en invernadero. El éxito del establecimiento de las plántulas de *Puya raimondii* en su hábitat parece depender de las zonas en que ocurra la germinación; aquellas plántulas que emergen en las zonas rocosas, pedregosas o entre pajonales o musgos tienen mayor probabilidad de establecerse, debido a que estos microhábitats presentan suelos ricos en materia orgánica y la humedad, aireación y radiación adecuadas. Así mismo, les brindan protección a las fuertes oscilaciones de temperatura hasta que desarrollen las adaptaciones y el tamaño adecuado que les permitan soportar las condiciones en que viven (Vadillo, 2006).

Las plántulas obtenidas desde su germinación en invernadero midieron de 5 a 6 cm luego de 5 a 6 meses, mientras que en el Parque Nacional Huascarán crecen de 0,3 a 1,3 m de altura en ocho años. Estos datos permitieron estimar que la planta tendría un crecimiento aproximado de 1 cm por mes; así a los 28 años la planta podría

alcanzar un tamaño vegetativo de 3,36 m aproximadamente. Esta especie alcanza una altura promedio de 8,3 m incluyendo la inflorescencia. El crecimiento del eje floral, cuyo alto está entre los 4 a 8 m, se inicia a principios de los meses de mayo y junio, comienza a florecer a fines de julio, en octubre llega a su máximo desarrollo y continúa hasta mediados de diciembre seguidamente se inicia la fructificación para luego dispersar sus semillas en julio del año siguiente (Vadillo *et al.*, 2007).

Las semillas de *Puya raimondii*, aunque sean abundantes, rara vez encuentran el sustrato y las condiciones climáticas adecuadas para su desarrollo y actualmente se cierne sobre ella la última amenaza de la mano del hombre. La tala y la quema con la finalidad de habilitar zonas de pastoreo o áreas de cultivo, también afecta a los individuos más grandes, pues se les extrae una especie de harina que se encuentra en su interior. Fenómenos como el cambio climático y el calentamiento global disminuyen drásticamente la propagación natural de esta especie (Martínez y Altamirano, 2009).

f) Hábitat para la fauna.

El néctar de *P. raimondii* constituye un importante recurso para picaflores altoandinos, a esta información se añade estudios realizados para estimar la densidades poblacionales y determinar las relaciones entre la altura y la diversidad de aves en Bosques de *Polylepis* spp. (Queñua) y en rodal de *P. raimondii*; en la que se registran 22 especies de aves con una diversidad alfa de 9 especies en el rodal de *P. raimondii*. Sin mencionar el resto de fauna y flora asociada a la *P. Raimondii* (Salinas *et al.*, 2005 citado por Vadillo y Suni, 2005).

g) Usos y potencialidades.

Los pobladores utilizan partes de la *Puya* para la construcción de chozas, depósito de maíz, construcción de bancas además del uso de su resina gomosa como pegamento y las láminas del cogollo floral como adorno de casas (Goyzueta, 1999) citado por Apaza, 2005).

Se utiliza las inflorescencias para alimentar al ganado, los ejes florales secos son empleados para elaborar muebles rústicos, banquetas y pisos. Así como techar casas y como materia prima para la construcción de casas del campesino. Las hojas secas se emplean como deslindes de casas, huertas, y corrales, además de utilizar las cenizas como llucta que es un pequeño trozo de masa hecha de ceniza de espinos, molle o otros vegetales para acompañar como sazón en el mascado de coca (Pardo, 2002).

Considerada como una riqueza natural, con gran potencial ecoturístico, dada su belleza que sobresale y contrasta con las otras especies con las que comparte el mismo hábitat, además de presentar una de las inflorescencias más grandes del mundo vegetal (Vadillo *et al.*, 2007).

2.2.2. LA REPRODUCCIÓN DE LAS PLANTAS

La reproducción sexual: reproducción por semillas, cuya ciclo consta de una fase embrionaria, unión de los gametos masculino y femenino en la flor (cigoto); fase juvenil, que comienza con la germinación y crecimiento del embrión hasta formar una planta juvenil; fase adulta, alcanza su tamaño final y desarrolla flores y fase transitoria (Hartmann y Kester, 1991).

a) **La Semilla**

Es el principal órgano reproductivo de la gran mayoría de las plantas superiores terrestres y acuáticas. Ésta desempeña una función fundamental en la renovación, persistencia y dispersión de las poblaciones de plantas, la regeneración de los bosques y la sucesión ecológica (Vásquez *et al.*, 1997). La semilla deriva del óvulo fecundado y, a su madurez, contiene el embrión y las sustancias de reserva rodeados por el tegumento seminal el episperma, el embrión se halla en estado latencia y la ubicación y origen de los tejidos que acumulan las reservas pueden ser variables. También puede ser distinta la posición del embrión (Valla, 1983).

Los tegumentos del óvulo formarán la cubierta seminal, donde generalmente se observan dos capas: la testa, comúnmente derivada de la primina y casi siempre más

dura y resistente y hacia el interior, el tegmen, más delgado y producido normalmente por la secundina. (Santamarina *et al.*, 2006).

Cuando se quita el tegumento seminal queda a la vista el embrión formado por dos cotiledones masivos que se unen al talluelo en el nudo cotiledonar. Si se separan los cotiledones puede notarse que encima del nudo cotiledonar hay unas hojitas pequeñas que protegen el meristemo apical del talluelo, constituyendo la plúmula o gémula, también puede verse la radícula, que producirá la raíz primaria, que apunta hacia la micrópila o restos celulares (Vásquez *et al.*, 1997 y Valla, 1983).

b) Anatomía de la semilla

Después de la fertilización el huevo comienza a dividirse hasta formar el embrión de una nueva planta: las cubiertas exteriores o tegumentos originarán la cubierta de la semilla, las otras células del tejido central en algunos casos originarán el endospermo, que contiene las reservas de la semilla que serán utilizadas en el desarrollo inicial de la nueva planta. En muchas especies el endospermo no se forma y es el embrión el que acumula las sustancias de reserva, generalmente en los cotiledones u hojas embrionarias, que pueden llenar todo el interior de una semilla. En la naturaleza se encuentran infinidad de variantes en la estructura de las semillas; por ejemplo, en las semillas pequeñas el embrión puede poseer un cúmulo de pocas células o tener ya la forma de una pequeña planta en la que se distinguen claramente la radícula, los cotiledones u hojas embrionarias, la plúmula de la cual se desarrollará el tallo y el hipocótilo, conectando entre sí todas las estructuras (Vásquez *et al.*, 1997).

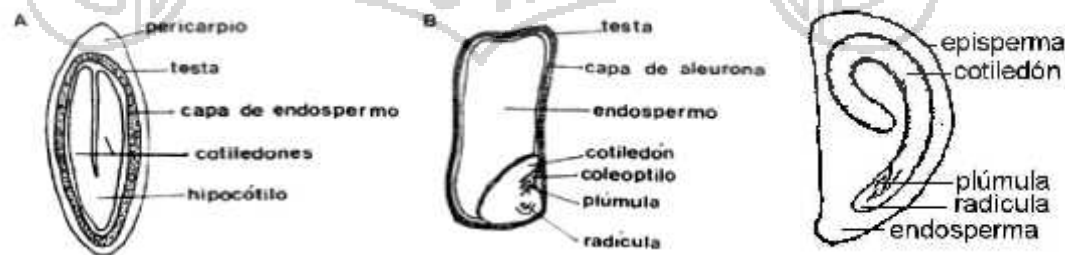


Figura 1. Anatomía de una dicotiledónea (A) y una monocotiledónea (B), derecha embrión de *Allium cepa*, cebolla, en corte longitudinal de semilla.

c) Germinación

La germinación es un proceso que consiste en la absorción de agua, la reactivación del metabolismo y la iniciación del crecimiento del embrión de una semilla (Bidwell, 1990). La germinación puede ser clasificada en dos tipos: la fanerocotilar en donde los cotiledones emergen de la semilla y criptocotilar en la cual los cotiledones no emergen de la semilla, sin embargo esta clasificación no indica si los cotiledones llevan a emerger o sobresalir por encima de la superficie del suelo (Castro *et al.*, 1987 citado en Zeballos y Flores, 2003) por esa razón otros autores mencionan a la germinación como epigea cuando los cotiledones salen de las semillas y se exponen fuera del suelo, y la germinación hipógea cuando los cotiledones permanecen dentro de la testa de las semillas y no emergen a la luz (Zeballos y Flores, 2003).

Se considera la germinación como la emergencia y desarrollo de las estructuras esenciales que provienen del embrión, y que manifiestan la capacidad de la semilla para producir una planta sana y con capacidad de establecerse en condiciones favorables. Mediante la germinación se estima la máxima proporción de semillas que podrán emerger en condiciones óptimas dando origen a plántulas normales, con potencial para establecerse y crecer (INIFAP, 1994).

La germinación de las semillas comprende tres etapas sucesivas que se superponen parcialmente: 1) la absorción de agua por imbibición, causando su hinchamiento y la ruptura final de la testa; 2) el inicio de la actividad enzimática y del metabolismo respiratorio, translocación y asimilación de las reservas alimentarias en las regiones en crecimiento del embrión, y 3) el crecimiento y la división celular que provoca la emergencia de la radícula y posteriormente de la plúmula. En la mayoría de las semillas el agua penetra inicialmente por el micrópilo y la primera manifestación de la germinación exitosa es la emergencia de la radícula (Vásquez *et al.*, 1997).

El método más recomendado para estimar esta variable consiste en poner a germinar muestras representativas bajo condiciones estándar controladas (Bonner, 1974). Se expresa como el porcentaje de semillas puras que produce plántulas normales o como el número de semillas que germinan (FAO, 1991).

Entre los parámetros que se evalúan para la germinación encontramos: Capacidad germinativa CG y energía de germinación EG (FAO, 1991) La capacidad de germinación es la proporción de una muestra de semilla que ha germinado de manera normal en un período de prueba específico; la energía germinativa es el porcentaje, en número de semillas de una muestra determinada que germinan dentro de un período determinado (que se denomina el período de energía); también se define como el porcentaje, en número de semillas de una muestra determinada que germinan hasta llegar al momento de germinación máxima, que generalmente significa el número máximo de germinaciones en 24 horas (FAO, 1991).

En ambas definiciones la duración del período de energía es considerablemente inferior a la del período del ensayo completo que prescribe la Asociación Internacional de Análisis de Semillas ISTA. La energía germinativa es una medida de la velocidad de la germinación, y por ello se supone que también lo es del vigor de la semilla y del germen que produce. El interés por la energía germinativa se basa en la teoría de que probablemente solo las semillas que germinan con rapidez y vigor en condiciones favorables del laboratorio serán capaces de producir plántulas vigorosas en las condiciones que las condiciones que existen en el terreno (FAO, 1991).

d) Germinación controlada por el ambiente

El número de investigaciones dirigidas al estudio de los factores que inducen la germinación de las semillas de diferentes especies es inmenso y se han propuesto numerosas alternativas para romper la latencia de las semillas, abreviar su duración, e inducir la germinación de semillas afectadas fisiológicamente, envejecidas o aun inmaduras. (Arciga, 2011).

La semilla botánica como producto de la evolución del ovulo después de la fecundación y su germinación requiere condiciones externas adecuadas para iniciar su actividad. No obstante, estas por si solas no son suficientes ya que muchas semillas presentan factores internos inhibitorios que requieren ser eliminados para que el embrión se desarrolle con normalidad. Varios tratamientos simulan efectos del ambiente que se dan en la naturaleza, por lo que una combinación del conocimiento

de los factores que regulan la germinación de la semilla, de bases informativas sobre el ambiente en que viven las especies que se están estudiando y de una buena dosis de sentido común seguramente conducirán al éxito para lograr la germinación, a no ser que la muestra de semillas tenga embriones inmaduros, o que no sea viable a causa de los procedimientos de recolecta y de manejo previo, o por causas endógenas (Vásquez *et al.*, 1997).

Cuadro1. Medios de germinación

MEDIOS	OBSERVACIONES
Agar-agar	Es un medio con humedad estable y baja contaminación. Conserva la humedad por un tiempo prolongado. Permite ver con facilidad la emergencia de la radícula y facilita el trasplante.
Papel filtro	La humedad se debe controlar constantemente para evitar su deshidratación
Tollas de papel	Presenta limitaciones al igual que el papel filtro
Vermiculita y agrolita	Son un medio de crecimiento, sin embargo puede ser útil como medio de germinación de semillas grandes pues en semillas pequeñas dificulta la localización.
Suelo	Las mismas observaciones que para el medio anterior, además se debe considerar que puede proveer estímulos de naturaleza compleja

Fuente: Vásquez *et al.*, 1997

Temperatura

La temperatura es considerada como uno de los principales factores que controlan la germinación, ya que actúa sobre las enzimas que intervienen en el proceso. Además el índice de germinación (inverso del tiempo requerido para alcanzar un determinado porcentaje de germinación), aumenta en forma lineal con la temperatura (García *et al.*, 1982 citado por (Faccini y Puricelli, 2006). Muchos fisiólogos han considerado que las temperaturas cardinales son parámetros fisiológicos muy útiles en el estudio de la germinación. Sin embargo, pueden presentarse dificultades al tratar de fijar en forma precisa las temperaturas cardinales de una especie, ya que con frecuencia éstas varían según el estado de maduración de las semillas o son difíciles de detectar debido a la lentitud de la germinación a ciertas temperaturas (Vásquez *et al.*, 1997).

La temperatura tal vez es el factor ambiental individual de mayor importancia que regula la germinación, propagación y crecimiento subsecuente de las plántulas, no solo tiene un límite superior (máximo) y otro inferior (mínimo) de temperatura de propagación, sino que también responden a ciclos específicos de fluctuaciones, estacionales o de fotoperíodo. Estos requerimientos de temperatura, no son necesariamente constantes si no que pueden variar con el tiempo o interactuar con algún otro factor ambiental como la luz (Hartmann, 1984).

La influencia de la temperatura sobre la germinación se conoce realizando pruebas a diferentes temperaturas constantes, en cámaras de germinación o incubadoras. Sin embargo, se puede llegar a un refinamiento mayor utilizando gradientes de temperatura, que proporcionan gran número de condiciones térmicas constantes entre dos temperaturas límites, las cuales se establecen según las necesidades del experimento y las condiciones del hábitat de la especie (Vásquez *et al.*, 1997).

Para conocer el efecto de las temperaturas fluctuantes en la germinación se debe fijar un termoperíodo conocido a cada una de las temperaturas que se incluyan en los tratamientos, procurando que la temperatura alta coincida con el período de iluminación (se considera la luz). La amplitud de la fluctuación de la temperatura y el termoperíodo deben establecerse tomando como base los que ocurren en el hábitat

natural de la especie, particularmente en el microsítio del suelo, ya que la temperatura del suelo no sólo depende de las condiciones climáticas del lugar, sino también de la cobertura vegetal que hay sobre él, la hojarasca, la humedad, la profundidad y otras características (Vásquez *et al.*, 1997).

Para cada clase de semillas, existe una temperatura mínima que por debajo de esta los procesos de germinación no se pueden detectar de manera visual en un período razonable de tiempo y una temperatura máxima, que por encima de esta los daños a la semilla son irreversibles. Existe también una temperatura óptima, en la cual se da el porcentaje máximo de germinación en un mínimo de tiempo (Bewley y Black, 1982).

La temperatura es un factor que afecta la germinación. Muchas semillas, una vez inhibidas, requieren ser sometidas a temperaturas bajas o altas, antes de germinar en una temperatura adecuada. A este proceso se le denomina estratificación y en él se llevan a cabo cambios metabólicos en las semillas. Por ejemplo, en las semillas de cerezo estratificadas a 5°C, el eje embrionario incrementa su tamaño, peso seco y número total de células; las semillas que permanecen a 25°C no muestran estos cambios. Se ha comprobado que en diversas especies (*Fraxinus americana*, *Juglans regia*, *Corylus avellana*) también disminuye el nivel del ácido abscísico. En muchos casos, las condiciones que se requieren para que la estratificación funcione se parecen a aquellas a las cuales la semilla está sujeta en condiciones naturales. Muchas semillas se producen en el otoño y pasan el invierno latente, en el campo (Bewley y Black, 1982).

Numerosas especies, frecuentes entre las rosáceas y las coníferas, han desarrollado la necesidad de permanecer cierto período a temperaturas bajas; las necesidades de tiempo y temperatura son específicas para cada especie. En algunos casos las semillas requieren estratificación a temperaturas altas. Especies anuales del desierto de Sonora necesitan un período a 50°C para incrementar el porcentaje de germinación. Asimismo, en los bosques ingleses se encontró que las anuales de invierno generalmente necesitan de un período con temperaturas altas, lo cual hace que permanezcan latentes durante el verano y retarden la germinación hasta el otoño.

Hay otros casos que requieren alternancia de temperaturas, ya sea diaria o estacional. Así, es frecuente que estos períodos con temperaturas diferentes a las que se requieren para germinar hagan que este proceso se alargue hasta que las condiciones para la plántula sean más adecuadas (Bewley y Black, 1982).

Luz

Es el factor que ha despertado interés en el estudio de semillas, ya que existe un gran número de especies que requieren luz para germinar en presencia de humedad y requieren oscuridad para su almacenamiento (Hartmann, 1984).

Con respecto al efecto de la luz también existen muchas posibilidades de experimentar. Es posible detectar si la luz afecta la germinación exclusivamente con pruebas de germinación en luz blanca y en total oscuridad. Hay que tener en cuenta que cantidades de luz mínimas, invisibles para el ojo humano, o exposiciones a la luz de fracciones de segundo, pueden afectar la germinación, por lo que no se recomienda el uso de plásticos negros u otros materiales poco confiables que dejan pasar algunas radiaciones luminosas (Vásquez *et al.*, 1997).

Un material adecuado para evitar la entrada de luz a los lotes experimentales que se desea mantener en la oscuridad es el papel aluminio comercial, del cual se recomienda poner una capa doble. Incluso en el experimento más sencillo de luz debe determinarse un fotoperíodo, es decir, el tiempo que estarán las semillas a la luz y a la oscuridad durante el día, ya que fotoperíodos de 24 horas de luz pueden dar resultados diferentes de los que se obtienen con fotoperíodos de 12 horas o menores (Vásquez *et al.*, 1997).

En otros casos afecta no sólo el porcentaje total de semillas germinadas sino también la velocidad. Al interactuar con la temperatura participa en el control estacional del rompimiento de la latencia Igual que en otros muchos fenómenos en los que interviene la luz, el efecto depende tanto de la intensidad como de la duración de la iluminación. La respuesta germinativa –estimulación e inhibición– estará en función tanto de la intensidad de la luz como de su duración, o sea de la energía total de

irradiación. Sin embargo, las transformaciones del fitocromo requieren muy poca energía e irradiaciones de unos cuantos segundos o minutos pueden ser suficientes para romper la latencia y germinar. Algunas otras requieren mucho más tiempo, dependiendo de las cubiertas de la testa que actúan como un filtro (Bewley y Black, 1982).

Cuadro 2. Materiales de bajo costo con los que se pueden generar en forma sencilla ambientes de luz con calidad espectral conocida.

CALIDAD ESPECTRAL	MATERIAL PARA EL FILTRO	FUENTE DE LUZ
Luz roja	Plexiglás, rubí Rolum and Hass	LF
Luz azul	Plexiglas Safiro Micas para iluminación teatral	LF
Luz roja lejana	Sobre poner un filtro rojo con Un filtro azul	LF
Luz Blanca similar a la luz del Día	Utilizar una mezcla luz fluorescente LF y Luz Incandescente LI	LI
<p>Antes de elaborar los filtros es necesario medir en una pequeña muestra, con un espectrofotómetro su transmitancia en las diferentes bandas del espectro, ya que estos materiales pueden llegar a tener transmitancia diferente a la esperada por problemas de producción.</p>		

Fuente: Vásquez *et al.*, 1997

Es posible determinar los termoperíodos y los fotoperíodos con base en lo que ocurre en condiciones naturales, aunque los que son cortos para una especie pueden resultar largos para otra. Los fisiólogos muchas veces emplean fotoperíodos y termoperíodos que, en términos generales, no corresponden con lo que ocurre en la naturaleza, pero que proporcionan información fisiológica muy precisa de los procesos que regulan la respuesta a la luz, y muchas veces tienen relación con el

microambiente que experimenta la semilla en una determinada condición (Vásquez *et al.*, 1997).

Escarificación

La escarificación de la semilla es una técnica que se lleva a cabo con el fin de acortar el tiempo de germinación. Se trata de una abrasión de la pared exterior de la semilla con la finalidad de adelgazar las cubiertas de la semilla (tegumento) para permitir que el endospermo entre en contacto con el aire y el agua. Se hace por abrasión, con productos químicos (ácido) o físico (cuchillo, aguja, papel de lija), teniendo mucho cuidado de no dañar el interior de la semilla (Patiño *et al.*, 1983). Un gran número de semillas de especies presenta latencia, razón por la cual no germinan aun cuando sean viables y se expongan a condiciones favorables. Los principales factores que inhiben la germinación son físico-mecánicos y físico-químicos en los primeros intervienen los recubrimientos de la semilla que pueden influir en la entrada del agua y oxígeno al actuar como barreras mecánicas, en el segundo intervienen ácidos o compuestos inhibidores de la germinación, como el ácido abscísico (Bidwell, 1990).

De manera artificial existen diferentes métodos para que las semillas pierdan su latencia y germinen, ya sea por tratamientos de escarificación mecánica o química (Herranz *et al.*, 1998). La escarificación forma parte de la metodología tradicional agrícola para incrementar y acelerar la germinación de semillas frescas y leguminosas que tienen latencia exógena por impermeabilidad al agua de las cubiertas seminales (Sánchez *et al.*, 2002) algunos tipos de tratamiento como frotar la semilla con lija hasta observar un adelgazamiento o fractura de la testa. Cortar una porción de la testa con una navaja, seguidamente, perforar la testa con aguja, colocar las semillas en agua hirviendo por diferentes períodos (desde 10 segundos hasta 60 minutos), colocar las semillas en ácido sulfúrico, y embeber las semillas en agua hasta 24 horas (Sánchez *et al.*, 2002).

Fotoblastismo

Algunas semillas presentan fotoblastismo, es decir si la luz estimula la germinación (fotoblastismo positivo), pero si es inhibida en presencia de la luz entonces se habla

de fotoblastismo negativo. Las semillas no fotoblásticas son aquellas cuya germinación es indiferente a la luz, el valor mínimo de luz para estimular la germinación varía para cada especie, pero en condiciones naturales esta puede depender de diferentes factores (Patiño *et al.*, 1983).

Latencia

Condición especial de crecimiento suspendido en el cual la planta y algunas partes de la planta como las yemas y las semillas no comienzan a crecer si no se dan determinadas condiciones ambientales. Estos requerimientos, que pueden ser exposición al frío y fotoperíodo apropiado, evitan la ruptura del reposo durante condiciones tan sólo superficialmente favorables para el crecimiento. También denominada dormancia o dormición. Tiempo en el que la planta disminuye su crecimiento y necesita menos calor y agua. Dependiendo de la especie, este período es más acusado en unas plantas que en otras (Herranz *et al.*, 1998).

Estimulación Fisiológica

Las semillas de muchos árboles forestales germinan sin problemas cuando están sujetas a condiciones favorables de temperatura y humedad. Aquellas semillas viables que no germinan bajo tales condiciones son consideradas en estado de dormancia. En tal caso las semillas son atacadas por hongos o insectos, debido al retraso en la germinación. La dormancia representa un problema para fines de manejo, pues extiende el período de germinación y desarrollo inicial de la plántula (Napier, 1985).

Algunas semillas que presentan latencias de cualquier naturaleza inician su germinación en presencia de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, algunas de ellas son hormonas vegetales. Estas sustancias desencadenan procesos fisiológicos relacionados con la germinación y sustituyen algún factor que actúa en el medio natural, como la luz o la temperatura (bajas o fluctuantes). Lo mismo puede ocurrir si se emplean sales minerales, compuestos nitrogenados y soluciones que modifiquen la permeabilidad de la membrana de las células de la semilla (cuadro 3) o estímulos químicos para la germinación (Vásquez *et al.*, 1997).

La respuesta germinativa, en cualquier condición experimental, se puede evaluar por el número de semillas germinadas (capacidad germinativa), el cual se expresa generalmente como porcentaje, o por la velocidad de germinación (número de semillas germinadas por unidad de tiempo). Estas formas de evaluación nos proporcionan información diferente, ya que muchas veces una especie tiene alta capacidad germinativa en una condición ambiental particular, pero el tiempo necesario para lograrla es muy largo, o bien puede ocurrir lo contrario. Estas dos posibilidades implican diferencias en la oportunidad de colonizar o competir por los recursos (espacio, luz, etc.) con otras especies (Vásquez *et al.*, 1997).

Cuadro 3. Fitohormonas como estimulantes

<p>Hormonas, para semillas con bajo nivel de hormonas o con desequilibrio hormonal que se refleja en el requerimiento de un período de frío (estratificación) y/o períodos de luz para germinar.</p> <p>a) Las semillas de zonas templadas requieren de un período de frío (estratificación) y/o luz para germinar: Proporcionar giberelinas exógenas (ácido giberélico) en concentraciones de 500 a 1500ppm o más dependiendo de la profundidad de la latencia.</p> <p>b) Semillas tropicales y subtropicales</p> <p>c) Giberelinas en concentraciones de 250 a 1000ppm. Auxinas (AIA, 2.4D). Citocininas (cinetinas). Combinaciones (p.e. cinetina + etefón (etileno + ácido giberélico) sales minerales. Producen alteraciones de la permeabilidad celular sustituyendo por ejemplo el papel de la luz en la germinación, Nitrato de potasio generalmente en concentraciones de 0.1 a 1% Soluciones hiperosmóticas. Modifican la permeabilidad interna de la semilla. Polietilen-glicol (Carbowax 6000 en soluciones con potencial osmótico de -10 a -15 bars).</p>

Fuente: Vásquez *et al.*, 1997.

Hormonas estimulantes o fitohormonas

El desarrollo de las plantas tanto en el aspecto de crecimiento como en el de diferenciación de órganos está regulado por la acción de sustancias químicas conocidas como hormonas vegetales que se producen en la misma planta e interactúan en algún proceso del desarrollo (Rojas y Ramírez, 1987). Existen varios gru-

pos de hormonas como las auxinas giberelinas y citocininas que tienen diversas funciones, como la elongación y división celular, maduración, floración etc. (Hartmann y Kester, 1991).

Es importante recordar sobre la aplicación de hormonas que el utilizarlas no consiste en aplicar de manera irracional para forzar el desarrollo, sino en establecer la fisiología normal cuando por desviaciones climáticas la planta no sintetiza las hormonas normales. Los fitoreguladores solamente excitan potencialidades naturales y no se deben esperar resultados maravillosos por su uso (Rojas y Ramírez, 1987).

Giberelinas

Se define como fitohormonas que son elaborados por las propias plantas y forman parte del equipo regulador del desarrollo de las plantas superiores provocando la elongación de los tallos a su vez estimulan la división celular. El principal efecto producido por la giberelina en la germinación es la eliminación de la dormición que presenta las yemas y semillas de numerosas especie (Rest *et al.*, 1988), La más conocida del grupo de las giberelinas es el ácido giberélico AG₃, actúa sobre el alargamiento de plantas intactas, controlan la elongación de los tallos por medio de sus efectos sobre la elongación y división celulares, también afecta la germinación de semillas y el cambium (Rovaló y Rojas, 1982).

Las giberelinas se producen en ápices de tallos y raíces, hojas en expansión, frutos y semillas en desarrollo. Las giberelinas provocan la división celular al cortar la interfase del ciclo celular e inducir las células en fase G₁ a sintetizar ADN. También promueven la elongación celular al incrementar la plasticidad de la pared celular y aumentar el contenido de glucosa y fructosa, provocan la disminución del potencia de agua, lo que lleva al ingreso de agua y producen sus expansión. La más conocida es el ácido giberélico AG₃ (Flores y Abdelnour, 2000 citado por Arciga, 2011).

Ácido giberélico

Es también conocido como AG₃ es una fitohormona del grupo de las giberelinas, el cual se producen en cultivo de hongos (Hartmann y Kester, 1991) y se encuentra

disponible en presentaciones comerciales que entre otras funciones (induce la floración) provoca en ocasiones la germinación de semillas, rompiendo el letargo, y actuando de manera contraria al ácido abscísico (Rojas y Ramírez, 1987).

Agua

Está es fundamental para que la semilla se rehidrate y exista un medio acuoso donde los procesos metabólicos puedan llevarse a cabo. Es recomendable realizar un remojo de 12 horas, si se desea evitar este paso se debe sembrar directamente pero sin olvidar humedecer lo suficiente el sustrato. El primer paso para que se inicie la germinación es que la semilla entre en contacto con el agua. Ésta es fundamental para que la semilla se rehidrate y exista un medio acuoso donde los procesos enzimáticos puedan llevarse a cabo. La semilla requiere de una pequeña cantidad de agua para rehidratarse, generalmente no más de 2 a 3 veces su peso seco; sin embargo, la nueva plántula tiene requerimientos mayores para que sus raíces y hojas puedan seguir desarrollándose. Son dos los factores que deben tomarse en cuenta al analizar el proceso de absorción (llamado imbibición) de agua por parte de la semilla: 1) las relaciones de la semilla con el agua, y 2) la relación entre la semilla y el sustrato (Bewley y Black, 1982).

Gases

En la germinación se comprende un intercambio de gases, la semilla libera bióxido de carbono e ingresa oxígeno. Para que esto se nos haga más fácil de entender, debemos de considerar que las plantas son seres vivos que tienen los mismos requerimientos que nosotros para poder vivir (Para lograr una buena distribución del oxígeno, se deben utilizar sustratos porosos como la agrolita y la vermiculita) La mayoría de semillas disminuirá su porcentaje de germinación si la concentración de oxígeno es baja, especialmente de la concentración normal que se encuentran en la atmósfera (20%). Aun en especies que pueden germinar bien bajo el agua se ha observado que la condición anaeróbica determinaba el desarrollo de plantas anormales que se corregían con la presencia de mayor cantidad de oxígeno (Bewley y Black, 1982).

2.3 MARCO CONCEPTUAL

Germinación.- Absorción de agua por parte de la semilla y activación del metabolismo, seguido de la ruptura del tegumento, de la emisión de la radícula y del crecimiento de la plántula, la fase inicial es principalmente función de absorción de agua, mientras que la segunda es dependiente de la movilización de reservas de la semilla (Prisco *et al.*, 1981)

Endocarpo.- La capa interior de la pared del fruto.

Endosperma.- Tejido de la semilla que se desarrolla de la fertilización de los núcleos polares del óvulo por el segundo núcleo masculino y que nutre al embrión.

Escarificación.- Se denomina de esta manera a cualquier proceso por medio del cual se puede romper, rayar, alterar mecánicamente, suavizar o ablandar las cubiertas de las semillas para hacerlas permeables al agua y a los gases (CATIE, 1996).

Fluorescente.- una sustancia es fluorescente cuando al recibir radiación entre una radiación propia, de una longitud de onda igual o diferente a la luz incidente.

Hipocótilo.- Parte del eje del embrión que da origen al sistema radicular de la planta joven.

Hormonas estimulantes.- Conocidas como fitohormonas y fitorreguladores. Se las define como sustancias químicas orgánicas producidas por las plantas, que en pequeñas concentraciones actúan en un lugar distinto de donde se produce interviniendo en el metabolismo del desarrollo inhibiendo o modificando cualquier proceso fisiológico de la planta (Raven y Curtis, 1975).

Iluminación.- Es la acción de alumbrar o dar luz y requiere siempre de un objeto directo. Se lleva a cabo a través de diversos elementos y artefactos, como lám-

para incandescentes (también conocidas como bombillas, bombitas o focos), lámparas fluorescentes (Vásquez *et al.*, 1997).

Imbibición.- Absorción de un solvente por una sustancia coloidal. Al comienzo de la imbibición la fuerza de atracción es muy grande, si se limita el espacio disponible para el colide, esa fuerza se transforma en presión de imbibición (Faccini y Puricelli, 2006).

Infrarrojo.- Energía radiante cerca del extremo de longitud de onda larga del espectro visible, entre 7000 Å y 7500 Å o 700 mμ y 750 mμ. Este es el lugar del espectro donde el ojo humano promedio empieza a dejar de percibir radiación.

Latencia.- O dormición es el estado en el cual una semilla viable no germina aunque se la coloque en condiciones de humedad, temperatura y concentración de oxígeno idóneas para hacerlo (Raven y Curtis, 1975).

Metabolismo.- Cambios químicos dentro de una célula proporcionan la energía requerida por una planta o un animal; el proceso implicado en la integración y destrucción del protoplasma como la requieren los procesos que generan la vida.

Radícula.- Raíz rudimentaria, el extremo inferior del hipocotilo del embrión. Forma la raíz primaria de la plántula joven.

Tegumento.- También llamado cubierta seminal o Integumento es el tejido que cubre y rodea al óvulo, el integumento se vuelve parte de la cubierta de la semilla.

Testa.- cubierta exterior de la semilla.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN DEL ESTUDIO

Los ensayos se realizaron en el Laboratorio Cultivo de Tejidos *in vitro*, de la Facultad de Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional del Altiplano de la ciudad de Puno, cuya ubicación geográfica y política es la siguiente:

Altitud : 3824 m.s.n.m.

Latitud Sur : 15° 49

Longitud Oeste : 70° 01

Distrito : Puno

Provincia : Puno

Región : Puno

Zona Agroecológica : Circunlacustre

El muestreo de las semillas se realizó en el rodal de puyas del sector Bellavista ubicada en la provincia de San Antonio de Putina, localizada en las coordenadas: zona 19L 0402323 8348482 a una altura de 4012-4248 metros sobre el nivel del mar.



Fuente: Google Earth.

3.2 MATERIALES

a) Material Biológico

Para el presente trabajo se utilizaron las semillas botánicas de plantas de *Puya raimondii* colectadas en el año 2010 y en el año 2012 del rodal de puyas ubicada en el Sector de Bellavista Provincia de San Antonio de Putina.

b) Materiales de Laboratorio

- Placas petri
- Matraz de Erlenmeyer
- Pipetas
- Probetas
- Vasos de precipitado
- Pinzas

- Sobres de papel
- Plumón indeleble

c) Insumos

- Acido giberélico
- Agua destilada
- Alcohol 70°
- Algodón

d) Equipos

- Termómetro de Máxima y Mínima
- Balanza analítica
- Autoclave
- Cocinilla eléctrica
- Cámara de flujo laminar
- Cámara fotográfica

e) Herramientas

- Bolsa
- Bandeja de plástico
- Cámara fotográfica
- Libreta de campo

3.3 METODOLOGÍA

El presente trabajo de investigación consistió en realizar pruebas de germinación bajo diferentes tratamientos para lo cual se siguió la metodología que se detalla a continuación.

3.3.1 Preparación de las semillas para la germinación

El material vegetativo para la presente investigación se obtuvo del rodal de puyas ubicada en el sector Bellavista, Provincia de San Antonio de Putina, región Puno. En el mes de junio del año 2010 se hizo una recolección de semillas de *Puya raimondii*, modificando el método establecido por la ISTA (Asociación Internacional de Análisis de Semilla) para el muestreo que sugiere tomar una cantidad representativa de semillas y un mayor número de lotes en semillas forestales de interés comercial. Por tratarse de una especie que debemos conservar se obtuvo semillas en pequeñas cantidades de cuatro individuos de *Puya* ubicadas al azar, posteriormente se hizo una limpieza de restos inertes y se guardó en sobres de papel manteniéndolos en un lugar seco.

A fines del mes de Diciembre del año 2012 se recolectaron semillas del mismo rodal. Para el efecto se hizo un recorrido en el rodal de puyas y al azar se eligió cuatro individuos de *Puya raimondii* de las cuales se extrajeron partes de inflorescencia aprovisionándonos de un par de palos de 2 metros de altura para alcanzar hasta las inflorescencia que miden aproximadamente 8 metros.



Figura. 2. Inflorescencia de *Puya raimondii* colectadas del rodal del distrito de Bellavista San Antonio de Putina-Puno

Luego de extraer las muestras biológicas se colocaron sobre hojas de papel para luego hacerlas secar y seleccionar las inflorescencias que se encontraban en buen estado, pues muchas de ellas se encontraron mojadas y en estado de putrefacción y/o solo se encontraron “alas” como restos de semilla que dejaron larvas de insectos que se alimentaron del embrión en su totalidad. Gran parte de las muestras obtenidas fueron desechadas por encontrarse muy dañadas, en la figura 3 se muestra las cápsulas que contienen las semillas de *Puya raimondii* que estuvieron intactas sin presentar un daño aparente.



Figura 3. Cápsulas extraídas de las inflorescencias de *Puya raimondii* colectadas y seleccionadas para el ensayo.

Por último se extrajo las semillas seleccionando las que estaban completas y sanas, tomando como referencia la apariencia: grandes blancas o rojizas y aladas lo que indican su buena calidad (Vadillo *et al.* 2004). Las semillas provenientes de los cuatro individuos se mezclaron para que al momento de la siembra sea al azar y representativa del rodal. Se rotularon las muestras para el año 2010 y para el año 2012 en sobres de papel para luego conservarlas en sobres de papel en un lugar seco hasta el inicio de los ensayos de laboratorio.



Figura 4. Semillas seleccionadas de *Puya raimondii* donde se observa el endospermo de color rojizo rodeada de una membrana dándole una apariencia de alas

Posteriormente se procedió a lavarlas en un matraz Erlenmeyer aforado con 100 ml de agua destilada, luego de enjuagarlas se procedió a secarlas con ayuda de un papel filtro.

3.3.2 Preparación de materiales para la siembra

Las placas petri, pipetas, probetas, matraces y vasos de precipitado se lavaron con detergente y agua potable, cuando estuvieron completamente secos se pasaron con algodón embebido con alcohol de 70°, enseguida se envolvieron en papel para ponerlos en el autoclave por un período de 20 minutos a 121°C de temperatura y 15 libras de presión. Cuando estuvo listo el material se dispusieron las 72 placas petri en la cámara de flujo laminar (figura 5).



Figura 5. Placas petri y semillas listas para la siembra en la cámara de flujo laminar

A las 72 placas petri luego de esterilizarlas se incorporó algodón humedecido como sustrato, el sustrato algodón fue escogido por mantener la humedad por largo tiempo a diferencia del papel secante que pierde la humedad rápidamente y otros sustratos que modifican el medio de germinación.

En la cámara de cultivo del Laboratorio de Cultivo de Tejidos *in vitro* de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNA – PUNO, se aprovisionó tres compartimentos diferentes para los tres rangos de temperatura (10-17°C; 17-24°C; 24-31°C) con sus respectivos termómetros y dos intensidades de luz (1000 lux y 2000 lux). El fotoperíodo se controló por 18 horas luz y seis horas de oscuridad dentro de una cámara de crecimiento.

3.3.3 Efecto de la escarificación mecánica y estimulación fisiológica en la germinación de semillas de *Puya raimondii*

El experimento consistió en evaluar el efecto de la escarificación mecánica y estimulación fisiológica como factores que influyen en el rompimiento de dormancia y provoquen la germinación de semillas de *Puya raimondii*. Para ello se colocaron 240 semillas en un envase de plástico. Los tratamientos de escarificación mecánica consistieron en la inmersión en agua de las semillas a una temperatura de 60°C utilizando la estufa para mantener la temperatura por el lapso de 24 horas. Para el tratamiento de estimulación fisiológica se recurrió a estímulos químicos (ácido giberélico) para inducir la germinación. La respuesta germinativa se evaluó por el número de semillas germinadas expresada en porcentaje de germinación y la

germinación media que es el número de días en que germina el 50 %, pues con la estimulación fisiológica queremos abreviar el tiempo en que tarda en germinar una semilla. Este tratamiento que incluye la aplicación de ácido giberélico a las semillas se siguió los siguientes pasos: en la balanza electrónica se pesó 100 gramos de ácido giberélico (AG₃), para luego agregar a un matraz de Erlenmeyer 60 ml de agua destilada, luego se removió con una bagueta, y por último se enrazó a 100 ml para completar la solución. Cada mes y a partir del día de la siembra se administró un 1 ml de ácido giberélico diluido en 10 ml de agua destilada a cada unidad experimental.



Figura 6. Placas petri preparadas con sustrato algodón para la siembra de semillas de *Puya raimondii*

Siembra de las semillas

Después de obtener las semillas preparadas y los tratamientos listos para su aplicación en la cámara de flujo laminar se procedió a rotular las 72 placas petri estériles por número de tratamiento y número de repeticiones, estas placas contenían capas de algodón humedecidas como sustrato para facilitar la conservación de la humedad. Para finalmente realizar la siembra se utilizaron pinzas estériles para sembrar 20 semillas en cada placa petri dispersando en el sustrato húmedo las semillas con una espátula estéril y de acuerdo al tratamiento recibido: 36 placas petri con tratamiento de estimulación fisiológica y escarificación mecánica (aplicación de ácido giberélico e inmersión en agua caliente a 60°C por 24 horas) y 36 placas petri sin estimulación fisiológica y sin escarificación mecánica.

Una vez terminada la siembra se cubrió las semillas con una capa delgada de algodón y se tapó cada placa petri para mantener la humedad constante. Finalmente se colocaron las placas en los compartimentos de la cámara de cultivo según al tratamiento recibido.

Evaluaciones

Diariamente se hizo un registro de la temperatura, se controló la luminosidad, y se hizo conteo de germinación de las semillas y el número de días transcurridos hasta que ya no se mostraron nuevas germinaciones en ninguno de los tratamientos. Siendo el día 63 del ensayo, donde se registró la última germinación. Se determinó la germinación con la emergencia de la radícula de la semilla notándose un color verde y crema.



Figura. 7. Semilla de *Puya raimondii* germinada donde se muestra la radícula ya emergida.

Nótese en la figura 7, que el extremo de la radícula tiene un color blanco lo que formaría la raíz adventicia y el color verde el cotiledón, se consideró como semilla germinada a 1mm de crecimiento de la radícula.

3.3.4 Efecto de las condiciones ambientales (luz y temperatura) en la germinación de semillas

Las semillas de diferentes especies germinan bajo diferentes rangos de temperatura, a excepción de temperaturas extremas. La sensibilidad de las especies difiere y no necesariamente a una mayor temperatura corresponde un incremento en la germinación. El efecto de la temperatura sobre las semillas es muy variado. Las semillas de cada especie pueden germinar dentro de un rango de temperaturas; sin embargo existe un punto óptimo, arriba o por debajo del cual la germinación también se lleva a cabo pero más lentamente. Así, la temperatura óptima es aquella bajo la cual se obtiene el porcentaje más alto de germinación en el menor tiempo. Las temperaturas máximas y mínimas de germinación son las temperaturas más altas y más bajas en las cuales todavía se produce germinación (Bewley y Black, 1982).

Para determinar el efecto de la temperatura se instalaron termómetros de máxima y mínima en tres compartimentos las cuales continuamente registran un rango de temperatura de 10 -17°C, 17 – 24°C y 24 a 31°C (figura 8).



Figura. 8 termómetros aprovisionados en cada compartimento para el control de los tres tratamientos de temperatura

En el caso de *Puya* se ha demostrado que las semillas son fotoblásticas positivas lo que indica que requiere luz para germinar según señala estudios realizados por Vadillo *et al.* (2004) sin embargo en este experimento tomamos en cuenta los niveles de intensidad de luz y duración de la iluminación, con esto determinamos si afecta a la velocidad de germinación. Para tales efectos seguimos el siguiente procedimiento:

Dos tratamientos de luz recibieron cada unidad experimental que constó de 20 semillas y tres repeticiones, para los tratamientos se utilizó dos focos fluorescentes (cada fluorescente emite 1000 lux de intensidad) instalados en la parte superior de los compartimentos y se utilizó una cartulina que permitiese pasar el 50% de luz para el tratamiento de 1000lux de intensidad. Se controló el fotoperíodo proveyendo a las semillas 18 horas/luz.



Figura 9. Disposiciones de las luces y cartulinas según el tratamiento aplicado en la cámara de cultivo.

Las variables de respuesta fueron:

a) **Potencia germinativa (PG)**

Calculado como el porcentaje de germinación total al finalizar en el ensayo.

b) **Germinación media (G 50)**

Calculado como el número de días que trascurren hasta el día en que se alcanza el 50 % de la germinación para cada unidad experimental.

c) **Tiempo de germinación por semanas**

d) **Velocidad de germinación (M)**

Definida como la relación del número de semillas germinadas con el tiempo de germinación.

$$M = \sum \frac{n}{t}$$

Donde:

M = velocidad de germinación.

n = número de semillas germinadas en el día.

t = tiempo de germinación desde la siembra hasta la germinación de la última semilla.

Los registros y evaluaciones se hicieron diariamente, todos los datos se registraron en una libreta. Para determinar la germinación de la semilla se hizo una medición de la radícula con una regla milimetrada y el conteo de semillas germinadas se hizo de forma manual con el uso de una pinza. Todo el registro se ordenó en una tabla para luego analizar los datos de acuerdo a las variables en estudio.

3.3.4 Diseño Experimental

El trabajo de investigación fue conducido bajo el Diseño de Bloques Completamente al Azar con arreglo factorial de $2 \times 2 \times 3 \times 2$ cuyos tratamientos son: 2 = (semillas del año 2010 y semillas del año 2012) 2 = estimulación fisiológica y escarificación 3) = temperatura 10-17°C; 17-24°C y 24-31°C 2 = luz 1000 lux y luz 2000 lux. Con tres repeticiones cada uno, para determinar el efecto de los factores de estimulación fisiológica y escarificación, luz y temperatura para el mayor porcentaje de semillas y menor tiempo de germinación, cuyo modelo aditivo lineal es el siguiente:

$$Y_{ijklm} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \delta_l + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\alpha\delta)_{il} + (\beta\gamma)_{jk} + (\beta\delta)_{jl} + (\gamma\delta)_{kl} + \epsilon_{ijklm}$$

i = 1,2 (semillas del año 2010 y semillas del año 2012)

j = 1,2 (con estimulación fisiológica y escarificación y sin estimulación fisiológica y escarificación)

$k = 1,2,3$ (rango de temperatura:10-17,17-24.24-31)

$l = 1,2$ (intensidad de luz: 1000 y 2000lux)

$m = 3$ repeticiones.

Donde:

Y_{ijklm} = variable de respuesta observada.

μ = promedio o media general.

i = Efecto del i -ésimo factor año de las semillas del año 2010 y 2012.

j = Efecto del j -ésimo factor estimulación fisiológica y escarificación.

X_k = Efecto del k -ésimo factor temperatura.

δ_l = Efecto del l -ésimo factor luz.

$(\alpha)_{ij}$ = Efecto de la interacción del factor año y estimulación.

$(\alpha X)_{ik}$ = Efecto de la interacción del año y temperatura.

$(\alpha \delta)_{il}$ = Efecto de la interacción del factor año y luz.

$(\alpha X)_{jk}$ = Efecto de la interacción del factor estimulación y temperatura.

$(\alpha \delta)_{jl}$ = Efecto de la interacción del factor estimulación y luz.

$(\alpha X \delta)_{kl}$ = Efecto de la interacción del factor temperatura y luz.

$ijklm$ = Error experimental asociado a la $ijkl$ -ésima unidad experimental.

Normalización de datos

Las variables expresadas en porcentaje se transformaron mediante la aplicación de la raíz cuadrada más $0.5 \sqrt{X + 0.5}$, previo al análisis de varianza. La comparación de medias se hizo mediante la prueba de tukey ($\alpha=0.05$). Los análisis se hicieron con el programa estadístico IBM SPSS 20 Statistics.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Efecto de la estimulación por escarificación mecánica y fisiológica en la germinación de semillas de *Puya raimondii*.

4.1.1. Potencia germinativa

El objetivo en esta parte del estudio fue determinar el efecto de la estimulación fisiológica mediante la aplicación de 0.1g de ácido giberélico AG₃ y escarificación mecánica por inmersión en agua caliente a 60°C por 24 horas y el efecto del año de recolección de 2010 y 2012 en la germinación de las semillas. Los datos de semillas germinadas hasta finalizar el ensayo fueron registrados como base para calcular el porcentaje de germinación de cada tratamiento.

a) Estimulación por escarificación mecánica y fisiológica sobre la potencia germinativa

Se obtuvo un promedio de 76.25 % de semillas germinadas respecto a la aplicación de ácido giberélico (AG₃) y escarificación mecánica lo que representa 15 semillas germinadas de 20 semillas sembradas y el promedio de las semillas sin estimulación fisiológica y sin escarificación mecánica fue 65.69 % obteniendo 13 semillas germinadas en promedio, de 20 semillas sembradas. (Cuadro 4).

Cuadro 4. Potencia germinativa (porcentaje de germinación) respecto a los tratamientos de estimulación por escarificación mecánica y fisiológica y sin estimulación en laboratorio.

Tratamiento	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	X ± EE (n° de semillas)
Con Estimulación	78.33	75.00	85.00	75.00	76.67	18.33	98.33	98.33	88.33	60.00	75.00	86.67	76.25±6.11(15)
Sin Estimulación	83.33	90.00	80.00	60.00	16.67	30.00	91.67	95.00	83.33	86.67	43.33	28.33	65.69±8.26(13)

Fuente: N. Choquechua, 2013

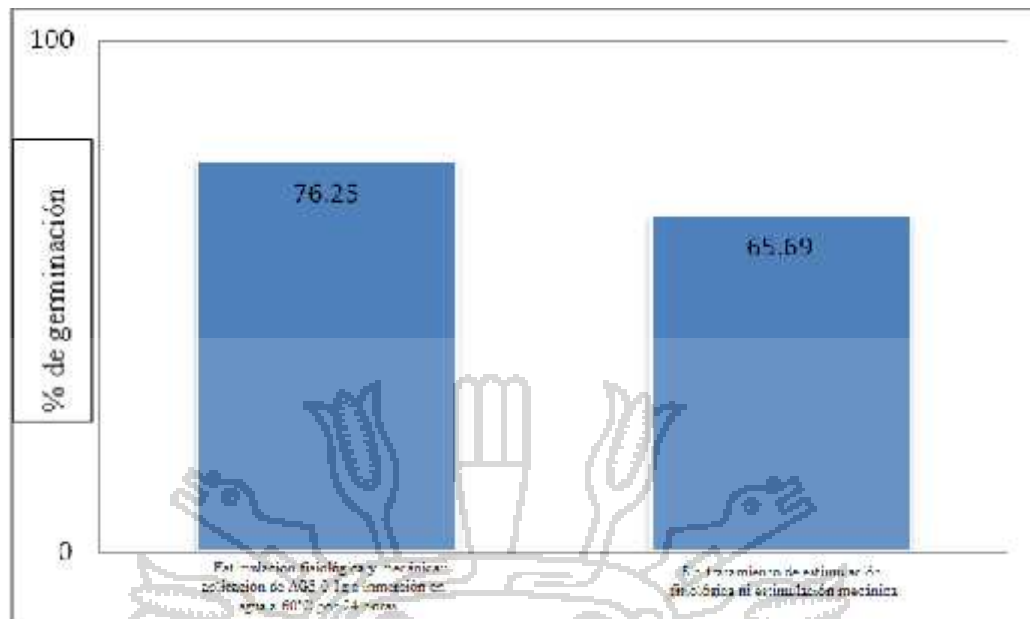


Figura 10. Porcentaje de germinación respecto a los tratamientos de estimulación y sin estimulación por escarificación mecánica y fisiológica.

En la figura 10 se observa que la estimulación fisiológica y escarificación mecánica y la no estimulación sobre las semillas presentaron altos porcentajes de germinación siendo la diferencia 11% entre ambos tratamientos, lo que equivale a 2 semillas en promedio, resultado que al ser analizado estadísticamente demostró que no se encontró diferencias significativas entre ambos tratamientos (Cuadro 6), determinando así que la dosis aplicada para la estimulación fisiológica y escarificación mecánica no causa efecto sobre el porcentaje de germinación.

Las semillas de puya no tienen una testa dura lo que permite el normal paso del agua por medio de sus tegumentos (imbibición) siendo fundamental para iniciar los procesos metabólicos para que ocurra la germinación sumado a ello la buena calidad de semilla que se observó respecto a su apariencia fue determinante para que las semillas germinen sin necesidad de aplicación de algún tratamiento de escarificación que estimule la germinación de las semillas. Se observó además que las semillas que fueron sometidas en agua caliente toleraron sin tener efectos negativos sobre la germinación por lo que se puede deducir que en la naturaleza también pueden tolerar abrasiones por elevadas temperaturas en veranillos u otras épocas del año. Sin embargo la acción de la estimulación fisiológica debiera actuar positivamente obteniendo un mayor número de semillas que se traduciría en mayor porcentaje de germinación lo cual no ocurrió

probablemente se deba a la dosis aplicada o que efectivamente no afecta sobre las semillas de *Puya raimondii*.

No se ha encontrado reportes de escarificación química por ingesta de semilla por animales que intervenga en la germinación de semillas de *Puya raimondii* por lo que queda evidente que los tratamientos de escarificación aplicados a la semilla no logran afectar lo que ocurre de manera natural a través del tiempo es decir no es necesaria ninguna estimulación debido a que son otros los factores que incrementan el porcentaje de germinación.

Los resultados obtenidos del estudio de semillas de *Echinochloa colona* presentan la capacidad de soportar condiciones donde las temperaturas son elevadas, al someterlos a un pre-tratamiento de 60°C por 48 horas y otra con agua hirviendo luego de estos tratamientos las semillas no sufrieron un daño en los embriones, tampoco lograron un efecto en el adelgazamiento de la testa (Mendoza, 2007). Estos resultados también coinciden con lo ocurrido en este trabajo. La escarificación usada como tratamiento para la germinación de *Pseudtsuga menziessii* tampoco funcionó para obtener un mayor porcentaje de germinación obteniendo 75% en semillas tratadas y 85% en semillas sin tratamiento de escarificación (Mäpula *et al.* 2008).

Sin embargo los resultados que reporta en estudios realizados sobre el porcentaje de germinación de semillas de *Mimosa aculeaticarpa* (Fabacea) indican que los tratamientos de escarificación mecánica fueron necesarios para lograr un mayor porcentaje de germinación 41% frente a 10% de semillas germinadas en tratamientos sin escarificación (Perez, 2007).

La aplicación de ácido giberélico no tuvo efecto significativo, estos resultados coinciden con lo obtenido sobre el proceso de germinación de *Mintostachys mollis* obteniendo 85.3% en porcentaje de germinación (Suarez *et al.*, 2011). De igual modo en cactáceas como *Opuntia rastrera*, *Opuntia microdasys* *Opuntia macrocentra*, el uso de ácido giberélico no promovió la germinación de estas especies obteniendo 30%, 50%, y 10% de potencia germinativa respectivamente (Mandujano *et al.*, 2007).

En *Mammillaria pectinifera* el tratamiento sin ácido giberelico obtuvo 95% de germinación en comparación de los que si tuvieron aplicación de AG₃ obteniendo 85% y 80% de germinación (Navarro y Demenegui, 2007).

En estudios de la especie *Dickia encholiroides* las semillas germinaron en similar porcentaje con y sin tratamiento de estimulantes fisiológicos obteniendo 28.3%, 31%, y 39% (Pompelli, 2004). En la especie *Helietta parviflora* tampoco tuvo un aumento en el porcentaje de germinación (Linares, 2000).

En cambio en las semillas de *Jaltomata procumbeus* el porcentaje de germinación aumentó significativamente de 28% a 87% (Saldivar *et al.*, 2010).

En muchas especies las giberelinas actúan como sustituto de las bajas temperaturas, días largos o luz roja estimulando la elongación celular provocando la salida de la radícula. (Salisbury y Ross 1992). Muchas semillas poseen dentro de sus componentes la suficiente cantidad de esta hormona o al haber una barrera física (la testa dura por ejemplo) que impiden que el interior de la semilla no absorba dicha sustancia y su acción no cause efecto sobre la germinación lo que explica que no haya diferencias en los porcentajes de germinación en los tratamientos aplicados.

b) Año de recolección de semillas sobre la potencia germinativa

El efecto del año de las semillas se estudió para conocer si las semillas recolectadas en el año 2010 habían perdido su capacidad de germinación el cual se determinó por medio de la potencia germinativa tomando referencia a las semillas recolectadas en el año 2012. El promedio de los resultados obtenidos para el año 2010 fue 64 % y 78 % para el año 2012 (Cuadro 5). En ambos tratamientos sobrepasaron el 50% de germinación del total de semillas sembradas observando que las semillas recolectadas en el año 2010 mantiene una buena capacidad de germinación no siendo significativa la diferencia frente a las semillas que se recolectaron en el año 2012 siendo este resultado positivo pues la viabilidad de estas semillas, almacenadas por dos años, es alta pese a que desconoce el año exacto de fructificación de las inflorescencias de donde se obtuvieron las muestras de semillas.

Cuadro 5. Potencia germinativa obtenida de la germinación de semillas recolectadas en el 2010 y 2012 en laboratorio.

Tratamiento	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	X± EE %
Año 2010	78.33	75.00	85.00	75.00	76.67	18.33	83.33	90.00	80.00	60.00	16.67	30.00	64.03 ± 7.75
Año 2012	98.33	98.33	88.33	60.00	75.00	86.67	91.67	95.00	83.33	86.67	43.33	28.33	77.92 ± 6.52

Fuente: N. Choquechahua, 2013

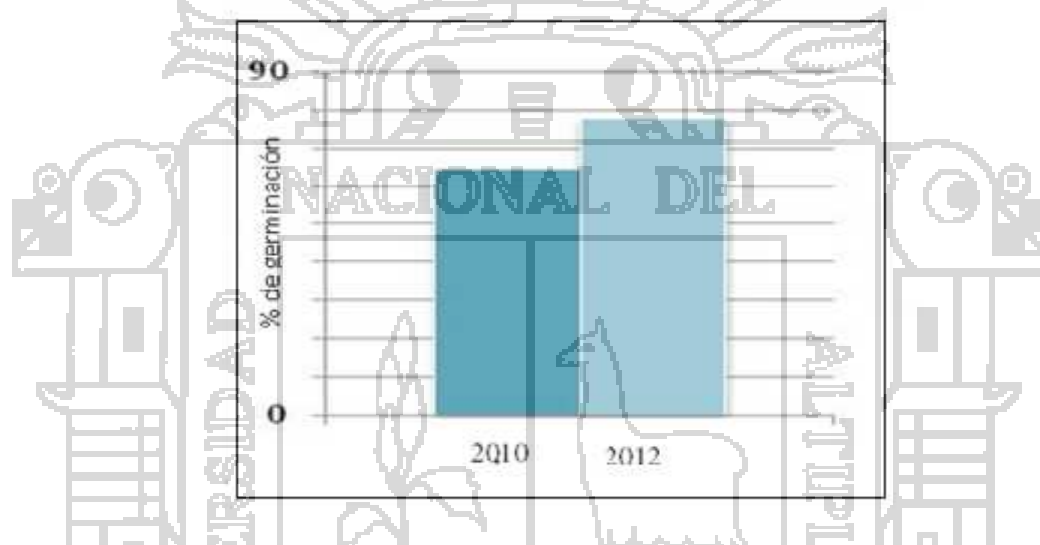


Figura 11. Porcentaje de germinación en relación a los años de recolección de semillas 2010 y 2012.

En la figura 11 se observa los porcentajes de germinación ambos presentaron similares valores los datos analizados estadísticamente demostraron que no hubo diferencias significativas tanto en las semillas del 2010 y 2012 (Cuadro 6). La capacidad de germinación de las semillas del año 2010 sigue siendo regularmente alto respecto a las semillas recientes, de lo obtenido se puede afirmar que sigue siendo una semilla con gran potencia germinativa.

Las semillas en general guardan latencia por largo tiempo, manteniendo así la capacidad de reproducirse cuando encuentran las condiciones propicias o también resulta ser un mecanismo de conservación para asegurarse que en el futuro todavía puedan subsistir al germinar y dar una planta. Sin embargo en el ensayo se ha observado que muchas

cápsulas se encuentran deterioradas imposibilitando el explote para que puedan dispersarse las semillas poniéndose a disposición de quienes se alimentan de los embriones de estas semillas, es posible que sea una forma también de regular la población ya que los millones de semillas que produce una inflorescencia podría afectar en la competencia de luz, nutrientes y espacio para crecer, pero por otro lado el desconocimiento de la cantidad de enfermedades y plagas que afectan directamente a la semilla podría empeorar el estado crítico en el que se encuentra la especie por lo que siendo la semilla su único medio de propagación conocido hasta ahora, sería importante guardar el germoplasma manteniendo la capacidad de germinación que posee.

Los resultados obtenidos se asemejan a los obtenidos por Reino *et al.*, (2008) quienes evaluaron semillas frescas y envejecidas de *Albizia lebbek*, *Gliricidia sepium* y *Bauhinia purpurea* todas con tratamientos de estimulación embebidas en agua caliente (80°C) reportaron altos porcentajes de germinación final. Los resultados obtenidos también son similares a los reportados por (Klekailo *et al.*, 2012) quienes evaluaron el efecto de la escarificación sobre la germinación de semillas con almacenamiento de dos años de la especie *Bromelia serra*, al porcentaje de germinación.

Cuadro 6. Análisis de varianza para datos de porcentaje de germinación de acuerdo al año y estimulación.

Fuente	Suma de Cuadrados Tipo II	gl	Media Cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	7,822 (a)	2	3,911	1,334	0,285
Intersección	1637,793	1	1637,793	558,635	0
Estimulación	2,926	1	2,926	0,998	0,329 n.s.
Año	4,896	1	4,896	1,67	0,21 n.s.
Error	61,567	21	2,932		
Total	1707,182	24			
total corregida	69,389	23			

Donde n.s. es no significativo.

Fuente: N. Choquecahua, 2013

4.1.2 Germinación media

La germinación media calculada por el número de días transcurridos hasta la germinación del 50% de las semillas germinadas en los tratamientos de año y estimulación. Los promedios analizados estadísticamente demostraron que no existe interacción entre los tratamientos de año de recolección (2010 y 2012) y estimulación fisiológica respecto a la germinación media, ambos tratamientos actúan independientemente sobre el tiempo medio de germinación. Las semillas del año 2010 con estimulación y sin estimulación obtuvieron promedios parecidos a las semillas del año 2012 tanto con estimulación y sin estimulación. Lo que indicaría que el tiempo en que tarda en germinar no depende de los tratamientos aplicados en este ensayo.

a) Estimulación sobre la germinación media

La germinación media fue determinada como los días que transcurrieron hasta germinar el 50% de las semillas de cada tratamiento. Los resultados obtenidos se muestran en el cuadro 7, el día promedio para el tratamiento de semillas con estimulación fisiológica y escarificación fue de 32 (31.94) días. Para las semillas sin escarificación fue de 37 (36.75) días. La diferencia entre ambos tratamientos fue de 5 (4.81) días no resultando una diferencia significativa entre los tratamientos estos resultados fueron corroborados al analizar estadísticamente entre tratamientos (Cuadro 7).

Cuadro 7. Germinación media en días obtenidos en los tratamientos de estimulación y sin estimulación de semillas en laboratorio.

Tratamiento	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	X (n° de días)
Con Estimulación	20	19	31	21	57	56	19	19	33	32	41	34	31.94(32)
Sin Estimulación	24	19	40	35	61	41	20	19	36	32	57	57	36.75(37)

Fuente: N. Choquecahua, 2013

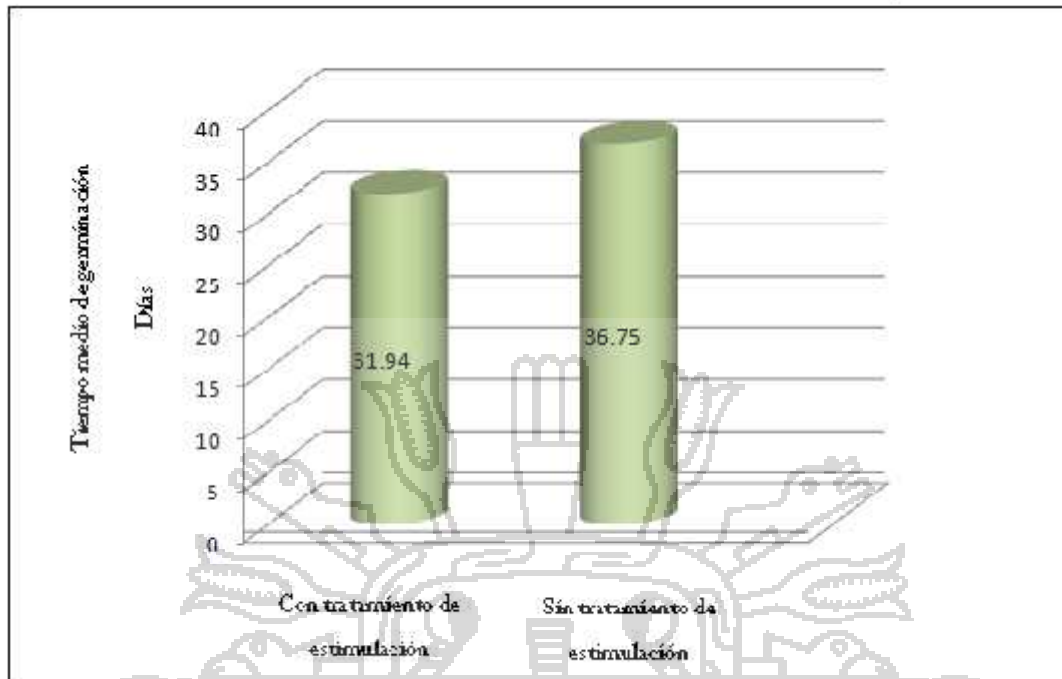


Figura 12. Germinación media respecto al tratamiento de estimulación fisiológica y tratamiento sin estimulación fisiológica.

En la figura 12 se observa que el tiempo medio de germinación de ambos tratamientos son similares, los datos analizados estadísticamente arrojan que no hay diferencias significativas (Cuadro 11), lo que indica que, tanto las semillas con tratamiento y sin tratamiento de estimulación germinan en tiempos parecidos y que la dosis aplicada de ácido giberélico no tuvo influencia sobre la germinación para reducir los días en que demora emerger la radícula de las semillas (germinación). Estos resultados obtenidos son similares a lo reportado en otras investigaciones de la familia bromeliaceae: en la especie *Dyckia encholirioides* el tiempo medio de germinación fue 14 días después de la siembra en tratamientos con ácido giberélico y sin aplicación de la misma (Pompelli, 2004). De igual forma en *Viresea* sp entre 6 y 10 días (Pereira *et al.*, 2009). y en estudios de cactáceas reportaron tiempo medio de germinación de 6 y 9 días para *Ferocactus histrix* y *Ferocactus latispinus* (Amador *et al.*, 2013).

b) Año sobre germinación media

En el día 35.36 después de la siembra germinaron el 50% de las semillas recolectadas en el año 2010, las semillas recolectadas en el año 2012 germinaron a los 33.33 días (Cuadro 8), se observa además que las semillas del año 2010 demoran 2.03 días más que el tratamiento de semillas del 2012.

Cuadro 8. Resultados de germinación media obtenidos en los tratamientos de año de recolección de semillas año. 2010 y 2012 en laboratorio.

Tratamiento	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	11	12	X días
Año 2010	20.0	19.33	31.00	21.33	56.67	56.33	23.67	19.00	40.00	34.67	61.00	41.33	35.36
Año 2012	19.6	19.00	33.33	31.67	41.00	34.00	20.00	19.33	35.67	32.33	57.00	57.00	33.33

Fuente: N. Choquecahua, 2013

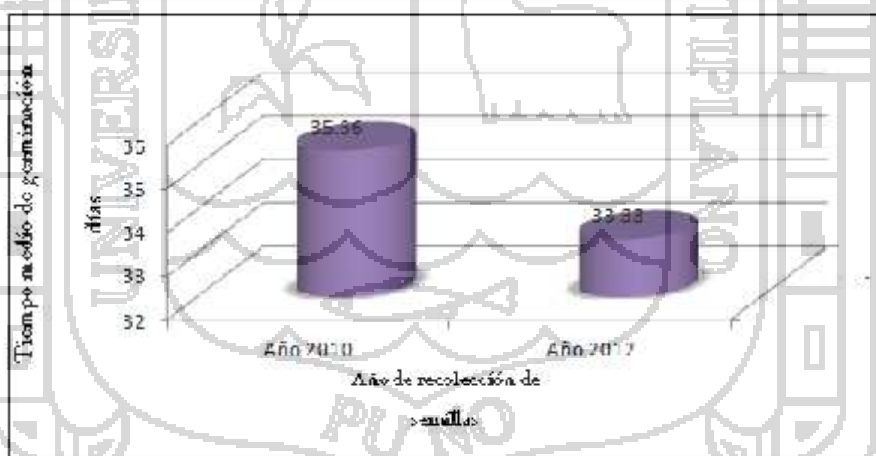


Figura 13. Tiempo de germinación de las semillas recolectadas en el año 2010 y 2012.

En la figura 13 se observa que el tiempo de germinación entre ambos tratamientos son similares lo que se corroboró estadísticamente (Cuadro 9) al no haber diferencias significativas, estos resultados demuestran que el almacenamiento de las semillas de *Puya raimondii* durante 2 años no afectaron en el tiempo en que demoraron en germinar el

50% de las semillas conservando su capacidad de germinación. Todas las semillas actúan de manera diferente incluso perteneciendo a la misma familia, donde las semillas responden a información del medio ambiente respondiendo a fluctuaciones estacionales. Las semillas germinan cuando hay disponibilidad de un ambiente adecuado para germinar y establecerse como planta definitiva, el tiempo de germinación es muy importante ya que al lograr establecerse después de la germinación deben rápidamente aprovechar las condiciones favorables como disponibilidad de agua, temperatura y luz.

En el ahuehuate o sabino *Taxodium mucronatum* encontró que a corto plazo se reduce drásticamente después de dos años de almacenamiento en refrigeración. La germinación de semillas recogidas en el mismo año de siembra germinaron y las semillas del año anterior no germinaron, el almacenamiento de las semillas es un factor muy importante para la obtención de plántulas de cualquier especie pero no afecta de la misma manera en todas las semillas (Enriquez *et al.*, 2004).

Las semillas almacenadas de especies de bromelias como *Tillandsia prodigiosa*, *Tillandsia carlos hankii*, *Tillandsia bourgaei*, *Tillandsia makoyana* *Tillandsia fasciculata* y *Tillandsia violacea* germinaron en promedio a los 20 días el 50% de las semillas (Sosa-Luria *et al.*, 2012) estos resultados se asemejan a lo obtenido en *Puya raimondii*.

Cuadro 9. Resultados del ANVA DBCA factores año y estimulación en el parámetro germinación media (días). Donde n.s es no significativo

Origen	Suma de cuadrados tipo II	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	163,241 ^a	2	81,620	,378	0,690
Intersección	28313,331	1	28313,331	131,021	0,000
Año	24,665	1	24,665	,114	0,739 n.s.
Estimulación	138,576	1	138,576	,641	0,432 n.s.
Error	4538,064	21	216,098		
Total	33014,636	24			
Total corregida	4701,304	23			

Fuente: N. Choquechua, 2013

4.2 Efecto de los factores ambientales temperatura y luz

4.2.1 Porcentaje de germinación

Los resultados obtenidos respecto a las semillas con tratamientos de tres diferentes temperaturas y dos intensidades de luz se muestran en los cuadros 10 y 12, cuyos resultados obtenidos demuestran que la interacción entre factores de estimulación temperatura y luz fue nula corroborándose en el análisis estadístico (Cuadro 13), lo que indica que todos los factores actúan de manera independiente.

a) Temperatura sobre el porcentaje de germinación

Las semillas que tuvieron un tratamiento de 10-17°C tuvo un 88 (88.75)% en promedio de semillas germinadas lo que corresponde a 17.75 semillas germinadas de 20 semillas sembradas; las semillas que tuvieron tratamiento de 17-24°C obtuvieron un 77 (77.29%) en promedio de semillas germinadas lo que corresponde a 15 (15.46) semillas germinadas de 20 semillas sembradas y por último las semillas que tuvieron tratamiento de 24-31°C obtuvieron un promedio de 65 (64.79)% de semillas germinadas lo que corresponde a 13 (12.95) de las 20 semillas sembradas todos los tratamientos tuvieron altos porcentajes de semillas germinadas aun siendo extremas los tratamientos de temperatura lo que atribuye a la semilla de *Puya raimondii* una gran capacidad germinativa llegando a germinar en condiciones que no son muy favorables (Cuadro 10).

Cuadro 10. Potencia germinativa en relación al tratamiento de tres rangos de temperatura en laboratorio.

Tratamiento	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	X %
10-17°C	78.33	75.00	98.33	98.33	83.33	90.00	91.67	95.00	88.75
17-24°C	85.00	75.00	88.33	60.00	80.00	60.00	83.33	86.67	77.29
24-31°C	76.67	18.33	75.00	86.67	16.67	30.00	43.33	28.33	64.79

Fuente: N. Choquechua, 2013

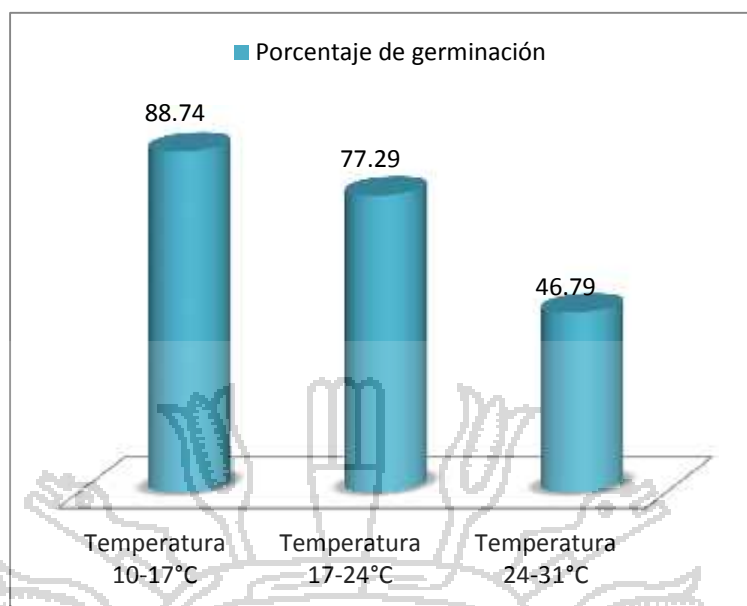


Figura 14. Diferencias entre porcentajes de germinación de tres tratamientos de temperatura.

La figura 14 muestra la diferencia entre tratamientos la temperatura más baja 10-17°C presentó mayor porcentaje de germinación obteniendo 88.74% siendo ésta el intervalo de temperatura óptima para germinar, las temperaturas moderadas de 17-24°C obtuvieron un 77.29% igualmente un alto porcentaje de germinación ubicándose también entre las temperaturas donde mayor porcentaje de semillas germinar no siendo así en el tratamiento con altas temperaturas pues se obtuvo un 46.79%. Los datos obtenidos demuestran que existen diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 13). La prueba de Tukey confirmó que la temperatura es un factor determinante para que germinen de manera eficiente o ineficiente (Cuadro 11).

Se observó un marcado efecto de la temperatura, los porcentajes más altos de germinación se obtuvieron en los tratamientos de 10-17°C y 17-24°C con estimulación y sin estimulación, ambas temperaturas difirieron de la temperatura alta 24-31°C donde se obtuvieron bajos porcentajes de germinación en comparación con los anteriores rangos de temperatura, no se registró mayor porcentaje de germinación inclusive hasta el día 80 desde de la siembra, estos valores no cambiaron por interacción entre tratamientos de temperatura e intensidad de 2000 lux y 1000 lux.

Los valores de temperatura donde se obtuvieron los mejores resultados de germinación (10-17°C) se encuentran en el intervalo de temperaturas que son consideradas como condiciones propicias para la germinación de cierto grupo especies, de la familia Bromeliaceae el cual fluctúa entre 10 a 17°C. En semillas de *Puya raimondii* provenientes de los Andes centrales del Perú se reportaron temperaturas óptimas de germinación menores a 21°C obteniendo 80% de germinación (Vadillo *et al.*, 2004) sin embargo el porcentaje de germinación que presentó para las semillas germinadas a 18.5-23°C de temperatura fueron muy bajos (PG=55.5%) en comparación de los obtenidos en el presente estudio (PG = 88.75%) es posible que dichos resultados pudieran deberse a los tratamientos de almacenamiento que utilizaron en el ensayo.

Los resultados obtenidos concuerdan con lo registrado para otras especies de *Bromelia antiacantha* especie que germina en temperaturas frías, y muy por el contrario las temperaturas óptimas reportados para otra gran cantidad de especies de Bromeliaceas que fluctúan entre 20°C y 35°C (Patiño *et al.*, 1983). Muchas especies de la familia Bromeliaceae y la subfamilia Pitcairniaceae, a la que pertenece *Puya raimondii* el comportamiento de germinación no es uniforme, para muchas de estas especies la germinación se ve favorecida en rangos de temperatura comprendidos entre 20 y 30°C como son especies *Pitcairnia aliblos*, *Dickia tuberosa*, *Dyckia goehringii*, *Alcantarea imperialis*, *Pitcairnia flammea*, *Vriesea heterosthachys* y *Vriesea penduliflora* (Vieira *et al.*, Pereira *et al.*, 2009, Duarte *et al.*, 2010, Klekailo *et al.*, 2012). y reportan otro grupo de especies donde la germinación se ve favorecida a temperaturas fluctuantes entre 20-35°C *Bromelia serra* y *Bromelia laciniosa*, *Neoglaziovia variegata*, *Pseudoananas sagenarius* (Klekailo *et al.*, 2012).

De lo reportado se ha podido observar que la gran mayoría de las especies que habitan en ambientes cálidos responden eficientemente a temperaturas altas lo que podría explicarse que la inducción a la germinación en rangos de temperatura altos resultan ser favorables para su capacidad germinativa, y lo contrario para *Puya raimondii* ya que esta especie habitan en ambientes fríos por lo que inducir la germinación de sus semillas en climas fríos tendría mayor probabilidad de obtener un mayor porcentaje de semillas germinadas.

Cuadro 11. Separación de medias por el factor HDS de Tukey ($\alpha=0.05$); entre rangos de temperatura. Con la misma letra son estadísticamente iguales.

Tratamiento	$\bar{X} \pm EE$	Prueba de Tukey ($\alpha=0.05$)
24 -31°C	64.79 \pm 4.48	A
17-24°C	77.29 \pm 4.04	B
10-17°C	88.75 \pm 3.16	B

Fuente: N. Choquechua, 2013

b) Intensidad de luz sobre el porcentaje de germinación

Los promedios obtenidos respecto a los tratamiento de intensidad de luz 1000 y 2000 lux se muestran en el cuadro 12, las semillas que fueron tratadas con una baja intensidad (1000 lux) tuvieron en promedio de 75% de semillas germinadas: 15 semillas germinadas de 20 semillas sembradas en promedio y en el ambiente de alta luminosidad (2000 lux) se obtuvo 66.94%, 14 (13.39) semillas germinadas de 20 semillas sembradas en promedio. Los valores obtenidos entre ambos tratamientos no presentaron diferencias significativas en el análisis estadístico (Cuadro 13) las intensidades de luz a las que fueron sometidas las semillas no tuvieron efecto en el aumento la potencia germinativa. Ambos tratamientos presentaron elevados porcentajes de germinación.

Cuadro 12. Porcentaje de germinación respecto a tratamientos de dos intensidades de luz en laboratorio.

Tratamiento	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	X%
luz1000	78.33	85.00	76.67	83.33	80.00	16.67	98.33	88.33	75.00	91.67	83.33	43.33	75.00%
luz2000	75.00	75.00	18.33	90.00	60.00	30.00	98.33	60.00	86.67	95.00	86.67	28.33	66.94%

Fuente: N. Choquechua, 2013

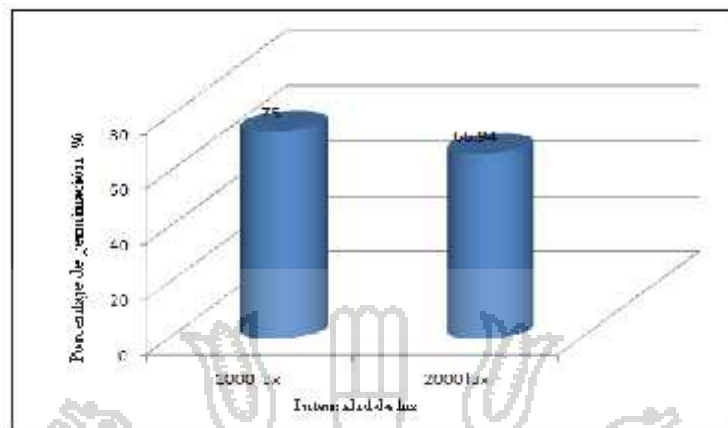


Figura 15. Efecto de la intensidad de luz respecto al porcentaje de germinación. Los extremos indican los valores que estuvieron por debajo o por encima del promedio.

La figura 15 muestra el comportamiento de los tratamientos de las intensidades de luz 2000 lux y 1000 lux, ambos tratamientos se desarrollaron similarmente, los porcentajes de germinación no variaron siendo la diferencia 8.06% siendo levemente más eficiente los tratamientos de menor intensidad de luz donde germinaron hasta 75% frente a 66.94 % en el tratamiento de 2000 lux de intensidad. Los datos analizados estadísticamente demostraron que no hubo diferencias significativas (cuadro 13), tampoco hubo interacción entre los tratamientos de intensidad de luz y temperatura.

Se comprobó que el efecto de la iluminación no fue un factor significativo para la germinación de las semillas de *Puya raimondii* estas fueron fotoblásticas indiferentes a las dos intensidades de iluminación ensayadas en este experimento los tratamientos presentaron similares porcentajes de germinación, en otras especies como *Mimosa aculeaticarpa* var. *Biucifera* tampoco encontraron un efecto significativo de la intensidad de luz por lo que se deduce que pueden germinar tanto en sombra como en sitios claros (Perez, 2007); mas no en ambientes de total oscuridad o menor horas de luz.

Estas observaciones se corroboran con los resultados que reportan en la evaluación de viabilidad y germinación de semillas realizada por Vadillo *et al.* (2004) quienes obtuvieron en sus estudios diferencias altamente significativas al comparar tratamientos

de luz continua, 9 horas luz, y total oscuridad, presentaron diferentes porcentajes de germinación; los menores valores de porcentaje de germinación tuvieron las semillas que estuvieron en oscuridad ($PG < 6\%$).

Cuadro 13. ANVA DBCA con arreglo factorial completo 2x3x2 estimulación, temperatura y luz en la variable potencia germinativa.

Origen	Suma de cuadrados tipo II	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	4165,653 ^a	11	378,696	7,979	0,001
Intersección	28557,031	1	28557,031	601,708	0,000
Estimulación	128,390	1	128,390	2,705	0,126 ns
Temperatura	3820,794	2	1910,397	40,253	0,000 *
Luz	99,349	1	99,349	2,093	0,174 ns
estimulación * temperatura	58,215	2	29,107	,613	0,558 ns
estimulación * luz	4,960	1	4,960	,104	0,752 ns
temperatura * luz	38,345	2	19,173	,404	0,676 ns
estimulación * temperatura * luz	15,600	2	7,800	,164	0,850 ns
Error	569,519	12	47,460		
Total	33292,203	24			
Total corregida	4735,172	23			

Donde *=significativo y n.s.= no significativo.

Fuente: N. Choquecahua, 2013

4.2.2 Germinación media

Los datos obtenidos de los tratamientos de estimulación, luz y temperatura fueron analizados estadísticamente para determinar la interacción entre los factores sobre el efecto en la germinación media de las semillas. Los resultados obtenidos arrojaron que no existe interacción entre los tratamientos: la estimulación fisiológica y la no estimulación fisiológica no tuvieron relación sobre los resultados obtenidos en los tratamientos de temperatura. De igual manera la estimulación fisiológica y la no estimulación fisiológica no tuvieron interacción con los tratamientos de luz, resultado que se respalda en las pruebas estadísticas cuadro 17 mostrando así que los factores de luz y estimulación no tienen efecto sobre la germinación media, con estos resultados también se deduce que cada tratamiento actuó de manera independiente. El único factor determinante en la germinación media fue la temperatura al obtener diferencias significativas entre los tratamientos.

a) Temperatura sobre la germinación media

Los tratamientos de temperatura obtuvieron resultados diferentes para cada tratamiento los mejores resultados se obtuvieron en las temperaturas frías (10 -17°C) llegando a germinar en un promedio de 20 días siendo este tratamiento donde hubo leves variaciones entre las unidades experimentales. El tratamiento de temperaturas moderadas (17-24°C) germinaron en un promedio de 32.50 días los resultados variaron hasta en 8 días más que el promedio general y las temperaturas altas (24-31°C) las semillas germinaron en un promedio de 50.54 días, además el valor más bajo se presentó en el tratamiento 3 el cual se alargó en un promedio de 10 días más que el promedio general (Cuadro 14).

Cuadro 14. Germinación media respecto a los tratamientos de temperatura en laboratorio.

Tratamiento	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	X días
Temperatura 10-17°C	20.00	19.33	23.67	19.00	19.67	19.00	20.00	19.33	20.00
Temperatura 17-24°C	31.00	21.33	40.00	34.67	33.33	31.67	35.67	32.33	32.50
Temperatura 24-31°C	56.67	56.33	61.00	41.33	41.00	34.00	57.00	57.00	50.54

Fuente: N. Choquechua, 2013

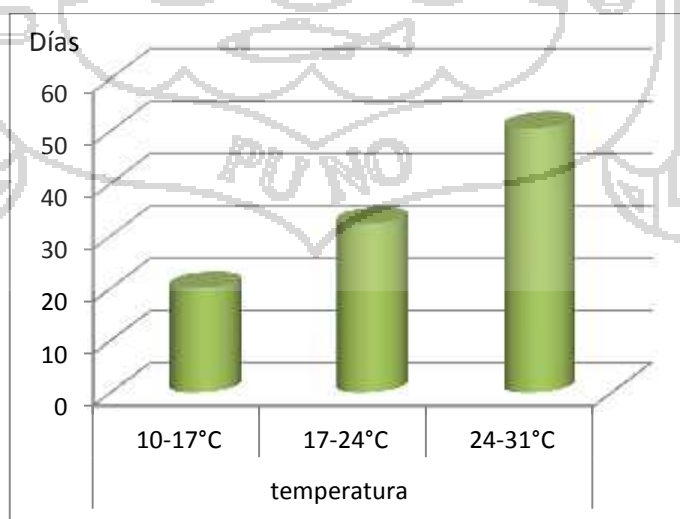


Figura 16. Diferencias entre los tres tratamientos de temperatura sobre la germinación media

En la figura 16 se observa los valores obtenidos en el tratamiento de temperatura de 10-17°C fueron las más óptimas germinando en 20 días, resultados muy diferentes al tratamiento de temperatura de 17-24°C donde las semillas germinaron en 31 días y a temperatura de 24-31°C no favorecieron en la germinación media germinando en promedio de 51 días estos resultados fueron corroborados por el análisis de varianza donde arrojaron diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 17), además de la prueba de Tukey que demuestra el orden de méritos el cual determinó que el tratamiento de temperaturas bajas son las más óptimas por germinar en menor tiempo (Cuadro 15).



Figura 17. Comportamiento de los tres tratamientos de temperatura: temperatura 1 (10-17°C), temperatura 2 (17-24°C) y temperatura 3 (24-31°C). El eje Y representa los días de germinación.

En la figura 17 apreciamos que la menor temperatura fue la más eficiente para que germinen incluso de forma sincrónica (todas en el mismo día) en cambio en el tratamiento de temperatura media (17-24°C) se observa que el tiempo de germinación se inicio en el día 21 y se prolongó hasta el día 40 y mucha más dispersión hubo en el tratamiento de temperaturas altas (24-31°C) que se prolongó hasta el día 61 lo que indicaría que las semilla retardan su germinación buscando un clima apropiado para germinar quizá en una mayor temperatura y otro factor podría ocasionar una dormancia secundaria en las semillas no germinadas.

El mejor rango de temperatura donde la germinación media se dio en menor tiempo fue en las temperaturas frías logrando germinar en un período de 20 días después de la siembra. Los resultados obtenidos difieren de lo encontrado en especies de bromeliáceas como *Alcantarea imperialis*, *Pitcarnia flamea*, *Vriesea Heterostachys* y *Vriesea penduliflora* presentaron la germinación mas optima a los 15 y 35°C donde la germinación se inicio en los días 4-5 siendo el día 7 donde llegaron al 50% de semillas germinadas (Pereira *et al.*, 2009).

Las plantas presentan una dormancia secundaria si la semilla se somete a condiciones que no permiten su germinación, es un mecanismo que impide que las semillas pierdan viabilidad en un medio que propicie su muerte (Hartmann y Kester, 1991).

Cuadro 15. Germinación media (días). Separación de medias por la prueba de Tukey

Tratamiento	$\bar{X} \pm EE$	Prueba de Tukey ($\alpha=0.05$)
24 -31°C	50.54 ± 6.52	A
17-24°C	32.50 ± 4.00	B
10-17°C	20.00 ± 2.30	C

Fuente: N. Choquecahua, 2013

b) Luz sobre la germinación media

Los resultados obtenidos (Cuadro 16) muestran que en el tratamiento de luz a 2000 lux de intensidad germinaron el 50% de las semillas a los 36 días, el tratamiento de menor intensidad 1000 lux de temperatura germinaron a los 36 días En ambos tratamientos el 50% de las semillas germinadas no presentaron diferencias significativas en el tiempo medio de germinación un 88.75% de las semillas en 19 días.

Cuadro 16. Germinación media respecto a los tratamientos de intensidad de luz en condiciones de laboratorio.

Tratamiento	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	X días ±EE
Luz 1000	20.00	31.00	56.67	23.67	40.00	61.00	19.67	33.33	41.00	20.00	35.67	57.00	36.58±4.35
Luz 2000	19.33	21.33	56.33	19.00	34.67	41.33	19.00	31.67	34.00	19.33	32.33	57.00	32.11±3.98

Fuente: N. Choquecahua, 2013

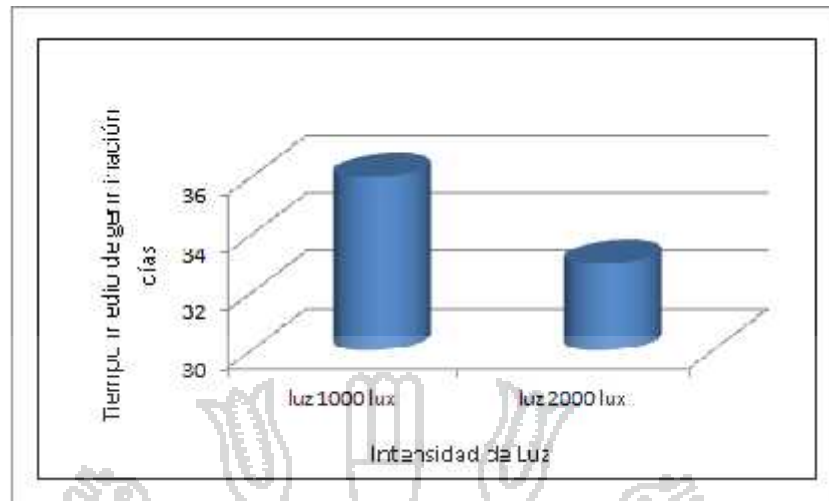


Figura 18. Efecto de los tratamientos de intensidad de luz sobre el tiempo medio de germinación. 2= el tiempo medio de germinación 36 en el tratamiento de 1000 lux de intensidad y 32 días para 2000 lux de intensidad.

En la figura 18 se observan el tiempo medio de germinación en el tratamiento de 1000 lux de intensidad y el tratamiento de 2000 lux de intensidad se observa la similitud al germinar en tiempos similares el cual indica que no existió diferencias significativas entre los tratamientos corroborándose estadísticamente cuadro 17. En el tratamiento de baja intensidad (1000 lux de intensidad), que para el efecto se utilizó un filtro y de esta manera las semillas recibieran una baja cantidad de flujo de fotones, obtuvo resultados similares a las semillas que recibieron directamente una alta intensidad de luz por ende una mayor flujo de fotones resultado que podría explicarse por la acción del fitocromo que es activado incluso en pequeñas cantidades de radiaciones para iniciar las actividades metabólicas hecho que se ha observado en el comportamiento de potencia germinativa, éstas tampoco interferirían en el tiempo en que germinar el 50% de las semillas, a diferencia de las semillas que se encuentran en total oscuridad que el tiempo en germinar era en mucho más tiempo y en menor porcentaje de germinación.

Los resultados obtenidos coinciden con los estudios realizados a las semillas de *Heliocarpus appendiculatus* donde la luz no fue un factor significativo entre la calidad de la luz, alcanzando porcentajes finales al quinto día posterior a la siembra (Figuerola y Vásquez, 2001) de igual manera en *Mintostachys mollis* donde germinó más de 50% de las semillas entre los 6 y 10 días después de la siembra (Suarez *et al.*, 2011).

la luz no fue un factor determinante en la germinación de *Mimosa aculeaticarpa* obteniendo 44.5% en tratamientos de luz continua en comparación de semillas germinadas en luz con 12 horas de fotoperíodo donde obtuvo 38.5% de semillas germinadas (Perez, 2007).

En semillas de *Puya raimondii* provenientes de los Andes centrales del Perú se reportaron temperaturas óptimas de germinación menores a 21°C obteniendo 80% de germinación iniciándose la germinación a los 9 días. (Vadillo *et al.*, 2004)

El fitocromo o fitorreceptor es el que absorbe la luz y controlan el proceso morfo-genético que comienza en la germinación de la semilla. La luz como fuente de información para las plantas, la cantidad de luz (fotones) que incide sobre las plantas por unidad de tiempo, dirección con que incide y su dirección diaria son aspectos que proveen información, los fitorreceptores permiten captar dicha información en función del ambiente luminoso y la demilla dispuesta superficialmente recibirá luz en la presencia de plantas vecinas reduce el flujo y altera la composición espectral de la luz (Salisbury y Ross, 1992)

Cuadro 17. ANVA DBCA con arreglo factorial 2x3x2 estimulación, temperatura y luz para la variable dependiente: germinación media (días).

Origen	Suma de cuadrados tipo II	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	4123,259 ^a	11	374,842	7,782	0,001
Intersección	28313,331	1	28313,331	587,774	0,000
Estimulación	138,576	1	138,576	2,877	0,116 n.s.
Temperatura	3772,012	2	1886,006	39,153	0,000 *
Luz	120,109	1	120,109	2,493	0,140 n.s.
estimulación * temperatura	44,012	2	22,006	,457	0,644 n.s.
estimulación * luz	7,786	1	7,786	,162	0,695 n.s.
temperatura * luz	26,661	2	13,331	,277	0,763 n.s.
estimulación * temperatura * luz	14,102	2	7,051	,146	0,865 n.s.
Error	578,046	12	48,170		
Total	33014,636	24			
Total corregida	4701,304	23			

Donde: *significativo n.s. no significativo.

Fuente: N. Choquechua, 2013.

4.2.3 Velocidad de germinación

Los resultados obtenidos indican que la temperatura es el único factor que interviene en la velocidad de germinación no siendo el mismo caso para los factores de estimulación fisiológica y luz, éstas últimas no afectan en la obtención de mayor porcentaje de semillas en el menor tiempo de germinación tampoco existe interacción entre los tratamientos (Cuadro 21).

a) Temperatura sobre la velocidad de germinación

El comportamiento de la velocidad de germinación de las semillas de *Puya raimondii* fue similar a la germinación media, los resultados obtenidos se muestran en el cuadro 18, en él se observan los promedios de los tres tratamientos de temperatura: 20 (19.84) en el tratamiento de temperaturas frías 10-17°C; 33 en el rango de temperatura de 33 (días) y 50.64 en el tratamiento de temperaturas altas 24-31°C.

Cuadro 18. Velocidad de germinación respecto a los tratamientos de temperatura en laboratorio.

Tratamiento	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	X \bar{E} EE
Temperatura 10-17°C	19.72	19.06	19.93	19.86	20.21	19.91	20.81	19.25	19.84±0.19
Temperatura 17-24°C	33.37	32.23	37.06	32.59	31.61	21.81	39.72	35.60	33.00±1.87
Temperatura 24-31°C	41.03	34.00	57.00	57.00	56.63	56.60	61.26	41.61	50.64±3.58

Fuente: N. Choquechagua, 2013

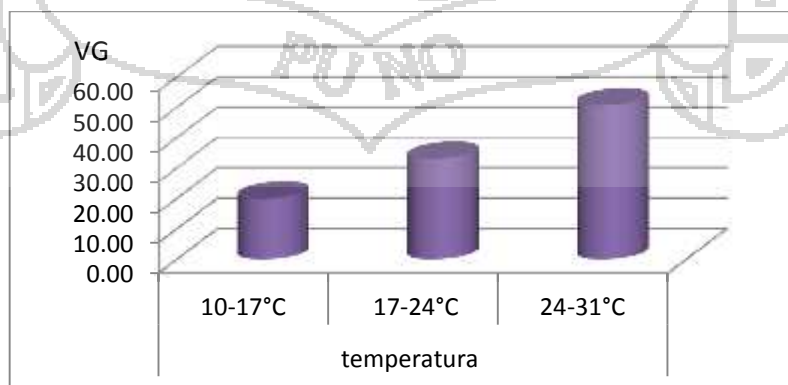


Figura 19. Diferencia entre los tres tratamiento de temperaturas, en las temperaturas frías se ha dado la mayor velocidad de germinación (VG) expresándose en menor tiempo de germinación.

En la figura 19 se observan las diferencias entre los tres tratamientos siendo el mejor rango de temperatura 10-17°C seguida del rango de temperatura 17-24°C y el rango donde la velocidad de germinación fue más lento demorándose hasta poco más del doble de días en comparación con el primer tratamiento y hasta 17 días más que el segundo tratamiento, estos resultados fueron corroborados estadísticamente mediante un análisis de varianza cuadro 21 al demostrar que existen diferencias significativas entre los tratamientos, la prueba de Tukey muestra el orden de meritos de los tratamientos cuadro 19, en el se observa que los tres rangos de temperatura son significativamente diferentes, y que la mejor temperatura está en el intervalo de 10-17°C por lo que se acepta la hipótesis planteada: la semillas de *Puya raimondii* germinan en bajas temperaturas.

En la especie *Viresea heterostachys* la velocidad más alta de germinación se presentó en temperaturas de 30°C en *Viresea penduliflora* la temperatura de 15°C a 35°C fue donde hubo mayor velocidad germinando en ambos casos entre los 4 y 5 días un porcentaje mayor al 80% de las semillas. Los rangos óptimos para *Pitcarnia flamea* fue de 15 a 25°C donde se obtuvo el mayor porcentaje de germinación en el menor tiempo. Generalmente los valores de velocidad de germinación mejoran en forma directa con la temperatura respondiendo a fluctuaciones estacionales y cotidianas (Taylor, 1999).

Las temperaturas inferiores o superiores al rango de temperatura óptima tienden a reducir la velocidad expresándose éste en mayor tiempo de germinación (Carvalho y Nakagawa 1988 citado por Pompelli, 2004). El rango óptimo para especies tropicales es entre 25 y 30°C (Ellis *et al.*, 1985 citado por Mendoza, 2007). En otros estudios de germinación de semillas se observó que las semillas de especies tropicales de la familia Bromeliaceae determinaron que a 25°C es la temperatura más adecuada para germinar semillas de: *Tillandsia prodigiosa* 9.8; *Tillandsia carlos hankii* 11.8; *Tillandsia bourgaei* 11.2; *Tillandsia makoyana* 23.2; *Tillandsia fasciculata* 14.0 y *Tillandsia violaceae* 4.0 días obteniendo las velocidades más altas de germinación (Sosa-lauría *et al.*, 2012).

Estos resultados difieren de lo obtenido en este trabajo donde se determino que el rango donde la mejor velocidad de germinación fue en las temperaturas bajas (10-17°C) en 20

días. Estas diferencias se deben a los diferentes hábitats de cada especie y como se mencionó anteriormente las semillas de cada especie tienen comportamientos distintos.

Cuadro 19. Velocidad de germinación. Separación de medias por el factor DHS de Tukey ($\alpha=0.05$) entre temperaturas. Todos los valores son diferentes.

Tratamiento	$X \pm EE$	Prueba de Tukey ($\alpha=0.05$)
24 -31°C	50.64 \pm 3.58	A
17-24°C	33.00 \pm 1.87	B
10-17°C	19.85 \pm 0.19	C

Fuente: N. Choquecahua, 2013

b) Luz sobre la velocidad de germinación

La velocidad de germinación se expresó en días, el menor tiempo en que germinan las semillas tiene una velocidad alta de germinación, en las semillas de *Puya raimondii* la velocidad promedio fue de 38 días con 1000 lux de intensidad y 34 días en el tratamiento de 2000 lux de intensidad (Cuadro 20) siendo la diferencia de 4 días. Sin embargo estadísticamente no existieron diferencias significativas (Cuadro 21).

Cuadro 20. Resultados Velocidad de germinación respecto a los tratamientos de temperatura en laboratorio.

Tratamiento	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	X días
1000 lux	19.72	33.37	41.03	19.93	37.06	57.00	20.21	31.61	56.63	20.81	39.72	61.26	38.06(38)
2000 lux	19.06	32.23	34.00	19.86	32.59	57.00	19.91	21.81	56.60	19.25	35.60	41.61	33.68(34)

Fuente: N. Choquecahua, 2013

En semillas de otras especies la luz depende de manera directa de la iluminación. Sin embargo las transformaciones del fitocromo requiere muy poca energía e irradiaciones de unos cuantos segundos o minutos puede ser suficiente para romper la latencia y germinar, algunos requieren más tiempo de exposición a estas radiaciones ello depende de la cubierta de la testa (Bewley y Black, 1982) la cubierta seminal de la semilla de *Puya raimondii* es delicada por lo que permite pasar irradiaciones al embrión para que provoque la germinación de semillas en ambos tratamientos es por ello que los promedios de velocidad de germinación fueron similares. Es posible que las semillas

que estuvieron en una intensidad menor se deba a que no recibió la misma cantidad de fotones y haya habido un leve retraso de 4 días respecto a las que estuvieron expuestas a 2000 lux de intensidad. Los tratamientos de intensidad de luz a los que fueron sometidas las semillas no presentaron diferencias significativas. Estos resultados indican que las semillas de *Puya raimondii* pueden germinar en espacios donde la intensidad de luz sea baja, o en lugares donde exista sombra y aun se pueda aprovechar el obtener un alto porcentaje de germinación en un tiempo considerable de germinación.

Los resultados obtenidos de la velocidad de germinación respecto a la luz coinciden con los obtenidos en la especie *Mintostachys mollis* al no haber efectos significativos de la calidad de luz para obtener mayor porcentaje de germinación en el menor tiempo obteniendo similares valores: 11.07 y 11.84 días en los tratamientos con diferentes intensidades de luz (Suarez *et al.*, 2011). De la misma manera en *Taxodium mucronatum* no hubo efectos significativos en la velocidad de germinación por la intensidad de luz solo en condiciones de ausencia de luz no obtuvo resultados favorables. *Taxodium mucronatum* y *T. distichium* necesitan luz para germinar sin importar la calidad de la luz o el espectro y es tolerante a la sombra donde la semilla logra germinar en áreas sombreadas (Enriquez *et al.*, 2004).

Cuadro 21. ANVA DBCA con arreglo factorial completo 2x3x2 estimulación, temperatura y luz en la variable velocidad de germinación

Origen	Suma de cuadrados tipo II	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	4165,653 ^a	11	378,696	7,979	,001
Intersección	28557,031	1	28557,031	601,708	0,000
Estimulación	128,390	1	128,390	2,705	0,126 ns
Temperatura	3820,794	2	1910,397	40,253	0,000 *
Luz	99,349	1	99,349	2,093	0,174 ns
estimulación * temperatura	58,215	2	29,107	,613	0,558 ns
estimulación * luz	4,960	1	4,960	,104	0,752 ns
temperatura * luz	38,345	2	19,173	,404	0,676 ns
estimulación * temperatura * luz	15,600	2	7,800	,164	0,850 ns
Error	569,519	12	47,460		
Total	33292,203	24			
Total corregida	4735,172	23			

Donde: *significativo n.s. no significativo.
Fuente: N. Choquechua, 2013

V. CONCLUSIONES

1. La aplicación de 0.1g de ácido giberelico (AG3) y la inmersión en agua caliente a 60°C por 24 horas como tratamiento de semillas de *Puya raimondii* Harms no tuvieron un efecto significativo en la germinación, obteniendo un porcentaje de germinación de 75.56% y un tiempo de germinación media de 31.94 días. En las semillas que no tuvieron tratamiento se obtuvieron un porcentaje de germinación de 65.69% y un tiempo de germinación media de 36.75 días. Respecto al año de recolección de semillas se obtuvo un porcentaje de germinación de 64.03% y un tiempo de germinación media de 35.35 días en las semillas recolectadas en el año 2010 y las semillas recolectadas en el año 2012 obtuvieron un porcentaje de germinación de 77.92% y tiempo de germinación media de 33.33 días. Todos éstos resultados al ser analizados estadísticamente no tuvieron diferencias significativas ($\alpha = 0.05$; $P > 0.05$)
2. La intensidad de luz no tuvo efecto significativo en la germinación de semillas de *Puya raimondii*, fue independiente si tuviera mayor o menor intensidad de luz obteniendo un 66.94% de porcentaje de germinación; tiempo de germinación media de 36.58 días y velocidad de germinación de 33.68 días en el tratamiento de mayor intensidad de luz; en semillas con baja intensidad de luz se obtuvo un 75% de porcentaje de germinación; tiempo de germinación media de 38.06 días y velocidad de germinación de 32.11 días. No hubo diferencias significativas entre los tratamientos ($\alpha = 0.05$; $P > 0.05$). La temperatura fue un factor determinante en la germinación de *Puya raimondii* Harms. Se concluye que el rango de temperatura de 10 a 17°C son las más óptimas para germinar obteniéndose altos porcentajes de germinación (88.54%) en menor tiempo de germinación media (GM=19.85 días) y mejor velocidad de germinación de 20 días (VG=20.00días); el rango de temperatura 17-24°C tuvo también un alto porcentaje de germinación (77.39%) y regular tiempo de germinación media (GM=33.00 días) y una velocidad de germinación de 32.50 días y el rango de temperatura 24-31°C presentó bajos porcentajes de germinación (64.79%) y mayor tiempo de germinación media de 50.64 días (GM=50.64) y lenta velocidad de germinación (VG=50.54). Los resultados se corroboraron estadísticamente ($\alpha = 0.05$; $P < 0.05$).

VI. RECOMENDACIONES

Para la germinación de semillas de *Puya raimondii* Harms se recomienda adecuarlas a temperaturas frías con incidencia de luz, manteniendo la humedad constante.

Es necesario continuar trabajos de investigación aplicando distintas dosis de ácido giberélico para aumentar la potencia germinativa de las semillas.

Se recomienda hacer investigaciones sobre el efecto de distintas fitohormonas en la germinación de semillas de *Puya raimondii*.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amador, K., Diaz, S. & Y. Bivian. 2013. Efecto de diferentes reguladores de crecimiento vegetal sobre la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de dos especies de *Ferocactus* (Cactaceae). 35: 109-131.
- Álvarez, M. & D. Montaña. 1997. Germinación y supervivencia de cinco especies de cactáceas del valle de Tehuacán: Implicaciones para su conservación. Acta Botánica Mexicana. 40,43-58.
- Apaza, L. 2005. Densidad poblacional de la *Puya* en el sector Bellavista-Putina. Tesina de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Altiplano. Puno-Perú.
- Arciga, M. A. 2011. Germinación *in vitro* de *Guarianthe aurantiaca* Bateman (Orchideaceae) Tesis título de licenciatura. Universidad Michoacana de San Nicolás. Hidalgo -México.
- Bewley, J. D. & M. Black. 1982. *Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination*, Springer Verlag, Nueva York, vols. 1 y 2.
- Bidwell, R.G. 1990. Fisiología vegetal. AGT Editor, S.A. Mexico.784 p.
- CATIE. 2000. Técnicas para la germinación de semillas forestales: manual técnico N°39 PROSEFOR, Turrialba, Costa Rica. 57p.
- Cruz, S. V. 2011. Evaluación de la germinación y viabilidad de semillas de la especie *Cupressus guadalupensis* S. Wats producida en el huerto semillero establecido en Chapingo. Tesis de grado. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, México.
- Duarte, E.F.; Carneiro, I.F.; Silva, N.F.D.; & Guimarães, N.2010 Características físicas e germinação de sementes de *Dyckia goehringii* Gross & Rauh (Bromeliaceae) sob diferentes temperaturas. Pesquisa Agropecuaria Tropical. 40:422-429

- Enrique Puga de los Reyes. 2000. Contribución al conocimiento de propagación de *Helietta parvifolia* (Gray). Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León. México.
- Enriquez, E. Suzan, H. & G. Malda. 2004. Viabilidad y Germinación de semillas de *Taxodium mucronatum* en el estado de Querétaro, México.
- FAO. Willam R, 1991. Guía para la manipulación de semillas forestales DANIDA – FAO.ROMA. 502p.
- Faccini, D. & E. Puricelli. 2006. Efecto de la temperatura y de la luz sobre la germinación de *Nicotiana longiflora* Cavaniles y *Oenothera indecora*. Camb. Agriscientia. 22: 15-21.
- Figueroa, J. & C. Vásquez. 2001. Efecto de la calidad de luz sobre la germinación de semillas en el árbol pionero tropical *Heliocarpus appendiculatus* (Tiliaceae). Biología Tropical.50:31-36.
- Guevara, E. Herrera, J. & R, Alizaga. 1997. efecto del sustrato y su condición hídrica sobre la germinación de semillas de café caturra. Agronomía Costarricense. CIGRAS. 21(2) 207-206.
- Hartmann, H. & Kester, D. 1997. Plant propagation: principles and practices. (Sixth Edition). Prentice-Hall, Inc. New Jersey, United States of America.770 p.
- Hartmann, H. T. & D. E. Kester. 1991. Propagación de plantas, principios y prácticas. CECSA. México DF. 760p.
- Herranz, J. M. Ferrandis, P., & J.J. Martínez. 1998. Influence of heat on seed germination of seven Mediterranean leguminous species. Plant Ecology. 136:95 – 103.

- INIFAP. 1994. Semillas Forestales. INIFAP. México DF. 137p.
- Klekailo, G., D. Tuesca & M. Barberis. 2012 Efectos de la temperatura, el ambiente lumínico y la escarificación sobre la germinación de semillas de *Bromelia serra* Griseb. (Bromeliaceae) *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 34, n° 4 p. 605 – 612.
- Mandujano, M. Golubov, C. Jordan & M. Rojas. 2007. Efecto del ácido giberélico en la germinación de tres especies del género *Opuntia* (Cactaceae) del desierto Chihuasense Cactáceas y suculentas mexicanas. 52: 46-52
- Mápula, M., Lopez, J., Vargas, J., & A. Hernandez. 2008. germinación y vigor de semillas en *Pseudotsuga menziesii* Ra Ximhai, 4: 119-134.
- Mendoza, C.F. 2007. Evaluación de las condiciones requeridas para la germinación y métodos de interrupción de dormancia en semillas de *Echinochloa colona* (L.) Link, para su posible manejo ecológico. Tesis de grado. Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua.
- Montiel, M. 1991. Introducción a la flora de Costa Rica. Ed 2. 345p
- Muñoz B., Sánchez, J. & W. Almaguer. 2004. Germinación, dormancia y longevidad potencial de las semillas de *Guazuma ulmifolia*. Pastos y Forrajes.27.
- Napier, I. 1985. Técnicas de viveros forestales con referencia especial a Centroamerica. Publicación miscelánea N° 5. Graficentro editores. Siguatepeque Honduras.109p.
- Navarro, M. & A. Demenegui. 2007. germinación de semillas y efecto de las hormonas en el crecimiento de *Mammillaria pectinifera*. Universidad Autónoma de Puebla-México. Rev. Zonas Aridas11 (1).
- Patiño, V.F., P. de la Garza, V. Gómez, I. Talavera, & F. Camacho. 1983. Guía para la recolección y manejo de semillas forestales. Instituto Nacional De Investigaciones Forestales. Boletín Informativo N° 62. México. 180 p.

- Pardo, O. 2002. Etnobotánica de algunas cactáceas y suculentas del Perú. *Chloris Chilensis* Año 5. N° 1.
- Perez, C. 2007. Germinación de *Mimosa aculeaplicarpa* variedad biucifera (Fabaceae). Tesis de grado. Universidad Autónoma de Hidalgo. Mexico.31p.
- Pereira, A., Andrade, A., Pereira, T., Forzza, R., Rodriguez, .S.2009. Comportamiento germinativo de especies epífitas e rupícolas de Bromeliaceae do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*.32:827-838.
- Pompelli, M. 2004. Germinação de *Dyckia encholirioides* Var *Encholirioides* (Bromeliaceae, Pitcairnióideae) *Universidade Federal De Viçosa*. *Revista Floresta E Ambiente*.
- Prisco, J.T.; Eneas Filho, J.R. & E. Gomez Filho. 1981. Effect of NaCl on cotyledon starch mobilization during germination of *Vigna unguiculata* (L.) Walp seed. *Revista Brasileira de Botânica*, Sao Paulo, v 4, n. 2.p. 63-71.
- Rojas, G.M. & Ramírez. 1987. Control hormonal del desarrollo de las plantas. Ed, LIMUSA México, D.F. 239p.
- Raven, P. & H. Curtis.1975. *Biología vegetal* ed. Omega. Barcelona-España. 716p.
- Reino, J. Gonzales Y. & A Sánchez. 2008. Temperatura óptima de germinación y patrones de imbibición de las semillas De *Albizia lebeck*, *Gliricidia sepium* y *Bauhinia purpurea* *Revista Pastos y Forrajes*, Vol. 31, No. 3.
- Rest, T. *et al.*, 1988. *Botánica: introducción a la biología vegetal*. Ed. Limusa. México. 465p.
- Renison, D. & A.M. Cingolani.1998. Experiencias en germinación y reproducción vegetativa aplicados a la reforestación con *Polylepis australis* (Rosaceae) en las Sierras Grandes de Córdoba. *Agriscientia*. 15: 47-53.

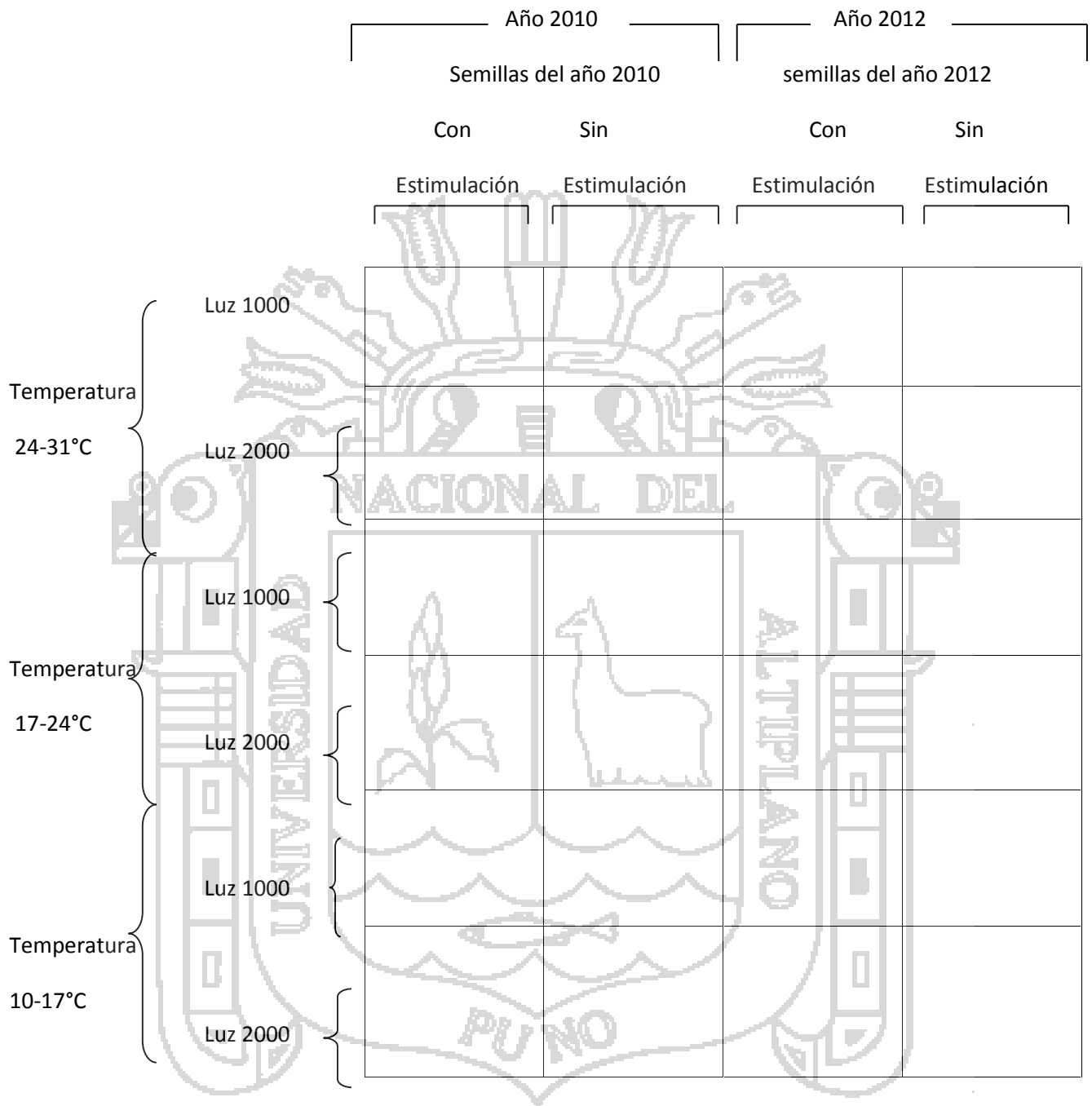
- Rovalo, M. & M. Rojas. 1982 Fisiología Vegetal Experimental. Ed. Limusa. México D.F. 269p.
- Saldívar, P. Laguna, A. Gutierrez, F. & M. Dominguez. 2010. Acido giberélico en la germinación de semillas de *Jallomata procumbeus*. Agronomía mesoamericana. 21: 327-331.
- Sosa – Lauría D., Chavez – Servia J., Mondragón – Chaparro D., Estrada – Gomez J. & Ramiro – Vallejo, P. 2012. Viabilidad de germinación de semillas de seis especies de *Tillandsia* (Bromeliaceae) De Oaxaca. Rev. Fitotec. Mex. Vol. 35 (Núm. Especial 5): 37 – 42.
- Sánchez, J., Muñoz, B., Reino, J. & L. Montejo. 2002. Efectos combinados de escarificación y de hidratación parcial en la germinación de semillas envejecidas de leguminosas. Cuba.
- Santamarina, M., J. Roselló, F.J. García, J. Rosello & P Santamarina. 2006. Introducción al funcionamiento de las plantas. Ed. Politéc. Valencia, España. 182p.
- Salisbury F. & C. Ross. 1992 Fisiología de las plantas. Paraninfo, España. 987p.
- Súarez, D., Fernández, J. & L. Melgarejo. 2011. Efecto de la luz y del ácido giberélico (AG₃) en la germinación de *Mintustachys mollis* Kunth. Griseb (Labiatae). Acta Biológica Colombiana. 2:149-154.
- Taylor, J., Wesler, J. & L. Smith. 1999. Soil disturbance. Flood management and riparian woody plan establishment in the Rio Grande flooplain. Weiland.19:372-383.
- Vásquez, C. Orozco, A. Rojas, M. Sánchez & M. Cervantes. 1997. La reproducción de las plantas: semillas y meristemas S.R. Fondo de Cultura Económica. México DF. México.

- Vadillo, G., Suni M, & Cano, A. 2004 Viabilidad Y Germinación De Semillas De *Puya Raimondii* Harms (Bromeliaceae) *Rev. Perú. Biol.* 11(1): 71- 78.
- Vadillo, G. & M. L. Suni. 2005. Evaluación Del Sustrato Para El Establecimiento De Plántulas De *Puya raimondii* Harms (Bromeliaceae), P. 51. Resúmenes De La XIV Reunión Científica Icar. Facultad De Ciencias Biológicas, UNMSM. Lima, Perú.
- Vadillo, G. & Suni M. 2006. Evaluación de sustratos para el establecimiento en laboratorio de plántulas de *Puya raimondii* Harms (Bromeliaceae). *Rev. Perú. Biol.* 13 (1) 139 –141.
- Valla, J. 1983. .Botánica: Morfología de las plantas superiores. Reimp. Hemisferio Sur. Buenos Aires. Argentina. 332 p.
- Vieira, B.C.; Silveira, F.A.O .2010. Reproductive phenology, seed germination and *ex situ* conservation of *Pseudananas sagenarius* in a semideciduous tropical forest fragment. *Plant Species Biology*, 25:214-220.
- Wttstein, R. 1944. Tratado de botánica sistemática. Labor S.A. 1039p.
- Zarate, J. 2006. Evaluación de la densidad y biometría de la *Puya raimondii* en el sector Bellavista Putina. Tesina de Licenciatura. Universidad Nacional del Altiplano Puno-Perú.
- Zeballos, P. & Y Flores. 2003. caracterización morfológica de plántulas de Uña de Gato *Uncaria tomentosa* (Willdernow ex Roemer & Schultes), D. C. y *U. Guianensis* (aublet) gmelin del Bosque Nacional Alexander Von Humboldt. Lima - Perú. *Ecología Aplicada* 2: 41-46.

ANEXOS



Anexo 1. Croquis de distribución de los tratamientos



Anexo 2. Datos de semillas germinadas hasta los 63 días de ensayo

RESULTADOS SEMILLAS GERMINADAS *Puya raimondii*

Año	Estimulación	Temperatura	Luz	R1	R2	R3	PROMEDIO	DE	EE	CV		
2010	CON ESTIMULACION	10-17°C	1000Lux	15	17	15	15.67	1.15	0.67	7.37		
			2000Lux	18	13	14	15.00	2.65	1.53	17.64		
		17-24°C	1000Lux	17	17	17	17.00	-	-	-		
			2000Lux	14	16	16	15.33	1.15	0.67	7.53		
		24-31°C	1000Lux	0	6	5	3.67	3.21	1.86	87.67		
			2000Lux	4	6	1	3.67	2.52	1.45	68.63		
	SIN ESTIMULACION	10-17°C	1000Lux	16	16	18	16.67	1.15	0.67	6.93		
			2000Lux	20	18	16	18.00	2.00	1.16	11.11		
		17-24°C	1000Lux	15	16	17	16.00	1.00	0.58	6.25		
			2000Lux	15	11	10	12.00	2.65	1.53	22.05		
		24-31°C	1000Lux	2	4	4	3.33	1.15	0.67	34.64		
			2000Lux	5	7	6	6.00	1.00	0.58	16.67		
		2012	CON ESTIMULACION	10-17°C	1000Lux	17	18	19	18.00	1.00	0.58	5.56
					2000Lux	20	20	19	19.67	0.58	0.33	2.94
17-24°C	1000Lux			20	17	16	17.67	2.08	1.20	11.78		
	2000Lux			18	18	0	12.00	10.39	6.01	86.60		
24-31°C	1000Lux			17	16	12	15.00	2.65	1.53	17.64		
	2000Lux			17	18	17	17.33	0.58	0.33	3.33		
SIN ESTIMULACION	10-17°C		1000Lux	17	20	18	18.33	1.53	0.88	8.33		
			2000Lux	19	19	19	19.00	-	-	-		
	17-24°C		1000Lux	15	18	17	16.67	1.53	0.88	9.17		
			2000Lux	17	17	18	17.33	0.58	0.33	3.33		
	24-31°C		1000Lux	5	11	10	8.67	3.21	1.86	37.09		
			2000Lux	12	5	0	5.67	6.03	3.48	106.37		

Anexo 3. Porcentaje final de semillas germinadas .

AÑO	ESTIMULACION	Temperatura	Luz	R1	R2	R3	PROMEDIO	DE	EE	CV
2010	CON ESTIMULACION	10-17°C	1000Lux	75	85	75	78.33	5.77	3.34	7.37
			2000Lux	90	65	70	75.00	13.23	7.65	17.64
		17-24°C	1000Lux	85	85	85	85.00	-	-	-
			2000Lux	90	65	70	75.00	13.23	7.65	17.64
		24-31°C	1000Lux	70	80	80	76.67	5.77	3.34	7.53
			2000Lux	20	30	5	18.33	12.58	7.27	68.63
	SIN ESTIMULACION	10-17°C	1000Lux	80	80	90	83.33	5.77	3.34	6.93
			2000Lux	100	90	80	90.00	10.00	5.78	11.11
		17-24°C	1000Lux	75	80	85	80.00	5.00	2.89	6.25
			2000Lux	75	55	50	60.00	13.23	7.65	22.05
		24-31°C	1000Lux	10	20	20	16.67	5.77	3.34	34.64
			2000Lux	25	35	30	30.00	5.00	2.89	16.67
2012	CON ESTIMULACION	10-17°C	1000Lux	85	90	95	98.33	5.00	2.89	5.08
			2000Lux	100	100	95	98.33	2.89	1.67	2.94
		17-24°C	1000Lux	100	85	80	88.33	10.41	6.02	11.78
			2000Lux	90	90	0	60.00	51.96	30.04	86.60
		24-31°C	1000Lux	85	80	60	75.00	13.23	7.65	17.64
			2000Lux	85	90	85	86.67	2.89	1.67	3.33
	SIN ESTIMULACION	10-17°C	1000Lux	85	100	90	91.67	7.64	4.41	8.33
			2000Lux	95	95	95	95.00	-	-	-
		17-24°C	1000Lux	75	90	85	83.33	7.64	4.41	9.17
			2000Lux	85	85	90	86.67	2.89	1.67	3.33
		24-31°C	1000Lux	25	55	50	43.33	16.07	9.29	37.09
			2000Lux	60	25	0	28.33	30.14	17.42	106.37

Anexo 4. Velocidad de germinación

RESULTADOS ESTUDIO VELOCIDAD DE GERMINACION DE SEMILLAS *Puya raimondii*

AÑO	ESTIMULACION	Temperatura	Luz	R1	R2	R3	PROMEDIO	DE	EE	CV
2010	CON ESTIMULACION	10-17°C	1000Lux	19.93	19.88	19.33	19.72	0.33	0.19	0.97
			2000Lux	19.17	19.00	19.00	19.06	0.10	0.06	0.29
		17-24°C	1000Lux	32.71	34.00	33.41	33.37	0.65	0.37	1.12
			2000Lux	32.00	32.88	31.81	32.23	0.57	0.33	1.02
		24-31°C	1000Lux	0.00	61.50	61.60	41.03	35.54	20.52	50.00
			2000Lux	34.00	34.00	34.00	34.00	-	-	-
	SIN ESTIMULACION	10-17°C	1000Lux	19.69	20.31	19.78	19.93	0.34	0.20	0.98
			2000Lux	20.90	19.67	19.00	19.86	0.96	0.56	2.80
		17-24°C	1000Lux	37.27	37.38	36.53	37.06	0.46	0.27	0.72
			2000Lux	33.67	31.00	33.10	32.59	1.40	0.81	2.49
		24-31°C	1000Lux	57.00	57.00	57.00	57.00	-	-	-
			2000Lux	57.00	57.00	57.00	57.00	-	-	-
2012	CON ESTIMULACION	10-17°C	1000Lux	20.35	20.33	19.95	20.21	0.23	0.13	0.65
			2000Lux	20.10	20.10	19.53	19.91	0.33	0.19	0.96
		17-24°C	1000Lux	30.80	32.71	31.31	31.61	0.99	0.57	1.80
			2000Lux	33.22	32.22	0.00	21.81	18.90	10.91	50.02
		24-31°C	1000Lux	57.24	56.50	56.17	56.63	0.55	0.32	0.56
			2000Lux	57.53	56.50	55.76	56.60	0.89	0.51	0.90
	SIN ESTIMULACION	10-17°C	1000Lux	21.12	20.15	21.17	20.81	0.57	0.33	1.59
			2000Lux	19.37	19.21	19.16	19.25	0.11	0.06	0.33
		17-24°C	1000Lux	39.40	39.94	39.82	39.72	0.29	0.17	0.42
			2000Lux	36.35	36.94	33.50	35.60	1.84	1.06	2.99
		24-31°C	1000Lux	61.40	61.09	61.30	61.26	0.16	0.09	0.15
			2000Lux	63.83	61.00	0.00	41.61	36.06	20.82	50.04

Anexo 5. Germinación media

RESULTADOS GERMINACION MEDIA DE SEMILLAS *Puya raimondii*

AÑO	ESTIMULACION	Temperatura	Luz	R1	R2	R3	PROMEDIO	DE	EE	CV		
2010	CON ESTIMULACION	10-17°C	1000Lux	20	20	20	20.00	0.00	0.00	-		
			2000Lux	20	19	19	19.33	0.58	0.33	2.99		
		17-24°C	1000Lux	30	32	31	31.00	1.00	0.58	3.23		
			2000Lux	33	31	0	21.33	18.50	10.69	86.73		
		24-31°C	1000Lux	57	56	57	56.67	0.58	0.33	1.02		
			2000Lux	57	56	56	56.33	0.58	0.33	1.02		
	SIN ESTIMULACION	10-17°C	1000Lux	22	20	29	23.67	4.73	2.73	19.97		
			2000Lux	19	19	19	19.00	0.00	0.00	-		
		17-24°C	1000Lux	39	40	41	40.00	1.00	0.58	2.50		
			2000Lux	36	37	31	34.67	3.21	1.86	9.27		
		24-31°C	1000Lux	61	61	61	61.00	0.00	0.00	-		
			2000Lux	63	61	0	41.33	35.81	20.70	86.64		
		2012	CON ESTIMULACION	10-17°C	1000Lux	20	20	19	19.67	0.58	0.33	2.94
					2000Lux	19	19	19	19.00	0.00	0.00	-
17-24°C	1000Lux			31	35	34	33.33	2.08	1.20	6.24		
	2000Lux			31	33	31	31.67	1.15	0.67	3.65		
24-31°C	1000Lux			0	61	62	41.00	35.51	20.53	86.61		
	2000Lux			34	34	34	34.00	0.00	0.00	-		
SIN ESTIMULACION	10-17°C		1000Lux	20	20	20	20.00	0.00	0.00	-		
			2000Lux	20	19	19	19.33	0.58	0.33	2.99		
	17-24°C		1000Lux	37	35	35	35.67	1.15	0.67	3.24		
			2000Lux	33	31	33	32.33	1.15	0.67	3.57		
	24-31°C		1000Lux	57	57	57	57.00	0.00	0.00	-		
			2000Lux	57	57	57	57.00	0.00	0.00	-		

Anexo 6. PANEL FOTOGRÁFICO



Figura 20. Semillas de *Puya raimondii* dañada por larvas de insectos



Figura 21. Cápsulas de inflorescencia seleccionadas donde contienen las semillas de *Puya raimondii*



Figura 22. Placas petri antes de la siembra y placas petri con las semillas sembradas



Figura 23.Control de temperatura y disposición de luz 2000 y luz 1000



Figura 24. Control luz 2000 y luz 1000



Figura 25. Evaluaciones a la tercera y cuarta semana de la siembra



Figura 26. Evaluaciones a la cuarta y quinta semana después de la siembra



Figura 27. Evaluaciones a la novena semana después de la siembra



Figura 28. Resultado del tratamiento a los 63 días de la siembra



Figura29. Plántulas de *Puya raimondii* obtenidas en condiciones de laboratorio

