

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

FACULTAD DE CIENCIAS Y FILOSOFÍA

“ALBERTO CAZORLA TALLERÍ”



**“DESEMPEÑO GERMINATIVO DE SEMILLAS DE
Lepidium meyenii Walpers “maca”: LA IMPORTANCIA DE
LAS ACCESIONES, LA TEMPERATURA Y
LOS PROMOTORES DE GERMINACIÓN”**

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

AUTOR:

José David Valqui Peña

Lima – Perú

2017

ASESOR:

Dr. Wilfredo Antonio Gonzales Lozada

JURADO CALIFICADOR:

PRESIDENTE: Dr. Raúl Loayza Muro

SECRETARIO: Msc. Luis Rossi Mayo

VOCAL: Lic. Camilo Díaz Santibáñez

DEDICATORIA

*“A Braulio y Alejandrina,
quienes me enseñaron que
el mundo está en las manos de aquellos
que tienen el coraje de soñar
y correr el riesgo de vivir sus sueños”*

AGRADECIMIENTOS

Cuando uno finaliza un trabajo que demanda una gran cantidad de tiempo y esfuerzo, sin dejar de lado las dificultades que aparecen en momentos inoportunos, es muchas veces inevitable ser asaltado por un egocentrismo que te lleva a concentrar la mayor parte del mérito en el aporte propio. Sin embargo, un análisis más profundo te muestra que la magnitud de ese aporte hubiese sido imposible sin la participación de personas e instituciones que han facilitado las cosas para la culminación del trabajo. Es entonces, un verdadero placer utilizar este espacio para ser justo y consecuente, expresándoles mis agradecimientos.

En primer lugar, agradezco a mis padres por la dedicación, amor y sobretodo, la paciencia con la que cada día se preocupaban por mi avance y desarrollo de esta etapa académica - profesional de mi vida. Las palabras me quedan cortas para expresar mi eterna gratitud.

Agradezco de manera especial y sincera a mi asesor de tesis, el Dr. Wilfredo Antonio Gonzales Lozada. Su apoyo y confianza en mi trabajo y su capacidad para guiar mis ideas ha sido un aporte invaluable, no solamente en la realización de esta tesis, sino también en mi formación como investigador.

Quisiera agradecer a Ciencia Activa – CONCYTEC por el financiamiento del *Proyecto 109-2015-FONDECYT-DE*. Les agradezco por la oportunidad y la confianza brindada.

Agradezco a la Lic. María Claudia Janampa y al Ing. Jonhny Vilchez por ser componentes esenciales en el desarrollo del proyecto. También agradezco a los productores Moisés Alderete, Arturo Cárdenas y Efraín Zúñiga por brindar las accesiones de semillas que se utilizaron en los ensayos de laboratorio.

Agradezco a los licenciados, bachilleres y estudiantes de Biología: María Claudia Janampa, Henry de la Cruz, Alejandra Lozano, Alonso Vigil, Carolina Barrera, Giuliana López y Eva Elsner, por el apoyo durante el diseño y ejecución de los experimentos en la presente tesis.

ÍNDICE

I.	Introducción.....	1
II.	Hipótesis.....	7
III.	Objetivos.....	7
IV.	Materiales y métodos	
	1. Especie de estudio.....	8
	2. Material biológico utilizado.....	9
	3. Diseño experimental.....	9
	4. Evaluación de la germinación de semillas.....	10
	5. Evaluación de la emergencia de plántulas.....	11
	6. Análisis estadísticos.....	13
V.	Resultados	
	1. Germinación de semillas	
	1.1 Efecto de la temperatura en la germinación de semillas.....	15
	1.2 Comportamiento germinativo de las accesiones de <i>L. meyenii</i> . 15	
	1.3 Efecto de la aplicación de promotores germinativos en la germinación de semillas.....	15
	2. Emergencia de plántulas	
	2.1 Efecto de la temperatura en la emergencia de plántulas.....	16
	2.2 Diferencias entre accesiones en la emergencia de plántulas.....	16
	2.3 Efecto de la aplicación de promotores germinativos en la emergencia de plántulas.....	16
	2.4 Efectos sobre el fenotipo de las plántulas	
	2.4.1 Variables morfológicas.....	17
	2.4.2 Contenido de pigmentos fotosintetizadores....	17
	2.5 Relación entre ambos eventos	18
VI.	Discusión.....	34
VII.	Conclusiones.....	39
VIII.	Referencias bibliográficas.....	40
IX.	Anexos.....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Germinación de semillas de *L. meyenii* sometidas a 4 tratamientos térmicos. El 50% de germinación se indica con una línea gris.

Figura 2: Porcentaje de germinación (A) y velocidad de germinación (B) de semillas de *L. meyenii* visto por accesiones. Las líneas punteadas indican el 50% de germinación. Se muestran los valores obtenidos en cada tratamiento térmico (medias \pm error estándar).

Figura 3: Porcentaje de germinación de semillas de *L. meyenii* sometidas a la aplicación de 2 promotores germinativos en 3 tratamientos térmicos. Se muestran las medias \pm error estándar.

Figura 4: Peso de semillas en accesiones de *L. meyenii*. El peso mostrado es el peso de 100 semillas. Se muestran las medias \pm error estándar.

Figura 5: Emergencia de plántulas de *L. meyenii* sometidas a 3 tratamientos térmicos. El 50% de germinación se indica con una línea gris.

Figura 6: Porcentaje (A) y velocidad de emergencia (B) de plántulas de *L. meyenii* sometidas a 3 tratamientos térmicos. Con líneas punteadas se indica el 50% de emergencia. Se muestran las medias \pm error estándar.

Figura 7: Porcentaje de emergencia de plántulas de *L. meyenii* sometidas a la aplicación de dos promotores germinativos en 3 tratamientos térmicos. Se muestran las medias \pm error estándar.

Figura 8: Altura de plántula (A) y longitud de raíz (B) en 7 accesiones de *L. meyenii* sometidas a 3 tratamientos térmicos. Se muestran las medias \pm error estándar.

Figura 9: Concentración de clorofilas totales (A) y carotenoides (B) en 7 accesiones de *L. meyenii* sometidas a tres tratamientos térmicos. Se muestran las medias \pm error estándar.

Figura 10: (A) Proporción Clorofila A/Clorofila B en 7 accesiones de *L. meyenii* sometidas a tres tratamientos térmicos. El rango indicado entre las líneas punteadas (2.5 -3.5) indican hojas verdes completamente desarrolladas. Valores por encima de este rango indican proceso de verdor de hojas etioladas o en desarrollo. (B) Proporción Clorofilas

totales/Carotenoides en 7 accesiones de *L. meyenii* sometidas a tres tratamientos térmicos. Valores por debajo de 3.5 (indicado con la línea punteada) son un indicador de estrés, senescencia, daño foliar o daño del fotosistema. Se muestran las medias \pm error estándar.

Figura 11: Relación entre los porcentajes (A) y las velocidades (B) de germinación y emergencia. Se muestra la tendencia lineal (línea constante) y los intervalos de confianza al 95% (líneas punteadas). También se muestran los análisis respectivos de los efectos de la germinación y el termoperiodo en la emergencia de plántulas con sus respectivos coeficientes de determinación (R^2). Las formas de las figuras indican las accesiones AMA (●), RMA (◆), NMA (✕), MMA (■), AEZ (★), RAC (▲) y NAC (▼) respectivamente.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Lista de accesiones por color de hipocótilo de procedencia, lugar de procedencia, año de cosecha y donante.

Tabla 2: ANOVA de tres vías con interacción para los efectos de la accesión y la adición de un promotor hormonal y/o químico en el porcentaje de germinación de semillas de *L. meyenii* sometidas a 3 tratamientos térmicos. Se muestran los valores de los estadísticos F y con asterisco se indica el valor de p. También se muestran los valores del coeficiente de determinación (R^2) de cada tratamiento térmico.

Tabla 3: ANOVA de tres vías con interacción para los efectos de la accesión y la adición de un promotor hormonal y/o químico en la velocidad de germinación sometida a 3 tratamientos térmicos. Se muestran los valores de los estadísticos F y con asterisco se indica el valor de p. También se muestran los valores del coeficiente de determinación (R^2) de cada tratamiento térmico.

Tabla 4: Valores de T_{50} por accesión en los 3 tratamientos térmicos.

Tabla 5: ANOVA de tres vías con interacción para los efectos de la accesión y la adición de un promotor hormonal y/o químico en el porcentaje de emergencia de plántulas de *L. meyenii* sometidas a 3 tratamientos térmicos. Se muestran los valores de los estadísticos F y con asterisco se indica el valor de p. También se muestran los valores del coeficiente de determinación (R^2) de cada tratamiento térmico.

Tabla 6: ANOVA de tres vías con interacción para los efectos de la accesión y la adición de un promotor hormonal y/o químico en la velocidad de emergencia sometida a 3 tratamientos térmicos. Se muestran los valores de los estadísticos F y con asterisco se indica el valor de p. También se muestran los valores del coeficiente de determinación (R^2) de cada tratamiento térmico.

Tabla 7: ANOVA de tres vías con interacción para los efectos de la accesión y la adición de un promotor hormonal y/o químico en dos variables morfológicas sometidas a 3 tratamientos térmicos. Se muestran los valores de los estadísticos F y con asterisco se indica el valor de p. También se muestran los valores del coeficiente de determinación (R^2) de cada tratamiento térmico en cada variable.

Tabla 8: ANOVA de tres vías con interacción para los efectos de la accesión y la adición de un promotor hormonal y/o químico en el contenido y proporción de pigmentos fotosintéticos sometidos a 3 tratamientos térmicos. Se muestran los valores de los estadísticos F y con asterisco se indica el valor de p. También se muestran los valores del coeficiente de determinación (R^2) de cada tratamiento térmico en cada variable.

RESUMEN

En ambientes estresantes, la supervivencia de las plantas en general está fuertemente afectada por los eventos asociados a las primeras fases de su ciclo biológico (germinación y emergencia). En ecosistemas de alta montaña, la exposición a bajas temperaturas es una de las condiciones de estrés más frecuente y se ha explorado sus consecuencias sobre el desempeño de las plantas, así como el rol de diversos promotores sobre la germinación. Existen pocos trabajos que indaguen, bajo condiciones controladas, las consecuencias de las bajas temperaturas sobre la germinación y emergencia de plántulas propio de los ecosistemas altoandinos. Una especie herbácea cultivada que destaca en estos ecosistemas es *Lepidium meyenii* Walpers (“maca”). Esta especie nativa de los andes peruanos puede soportar bajas temperaturas; sin embargo, se sabe que presenta altas tasas de mortalidad en las primeras fases de su desarrollo. En este trabajo, se evaluó el efecto de la temperatura, la aplicación de promotores germinativos sobre la germinación, emergencia y desarrollo temprano de accesiones de *L. meyenii*. Evaluamos los efectos de dos promotores germinativos (ácido giberélico e hipoclorito de sodio) en 7 accesiones de *L. meyenii* con procedencias distintas (AMA, RMA, NMA, AEZ, RAC y NAC), sometidos a 3 tratamientos térmicos (2-8°C, 4-15°C y 4-18°C). El descenso de la temperatura retrasó la germinación de semillas y la emergencia de plántulas. Se evidenció una fuerte asociación entre ambos eventos, y las accesiones mantuvieron diferencias en su desempeño relativo de manera consistente en todos los tratamientos térmicos, sugiriendo diferencias intrínsecas en la calidad de las semillas de acuerdo a su procedencia. En relación a los promotores germinativos, su aplicación favoreció ambas etapas, aunque no se encontró sinergismo entre ambos promotores ni mostró un efecto reducido sobre el desarrollo de las plántulas. Durante el desarrollo de las plántulas, el descenso de la temperatura promovió la formación de plántulas de menor tamaño, mostrando bajas concentraciones de pigmentos (clorofilas y carotenoides) y una asignación temprana al crecimiento radicular debido al estrés térmico. En conclusión, se evidenció que la temperatura y la procedencia del material mostraron diferencias asociadas al desempeño germinativo, y la aplicación de promotores germinativos favoreció estos eventos al reducir los efectos causados por las bajas temperaturas.

PALABRAS CLAVES: germinación de semillas, emergencia de plántulas, temperatura, promotores germinativos, L. meyenii

ABSTRACT

In stressful environments, the survival of plants in general is strongly affected by the events associated with the early stages of their biological cycle (germination and emergence). In high mountain ecosystems, exposure to low temperatures is one of the most frequent stress conditions and has explored its consequences on the performance of plants, as well as the role of various promoters on germination. There are few studies that investigate, under controlled conditions, the consequences of low temperatures on the germination and emergence of seedlings typical of high Andean ecosystems. A herbaceous cultivated species that stands out in these ecosystems is *Lepidium meyenii* Walpers ("maca"). This species native to the Peruvian Andes can withstand low temperatures; However, it is known to have high mortality rates in the early stages of its development. In this paper, the effect of temperature, the application of germination managers on germination, emergence and development of *L. meyenii* accessions has been evaluated. We evaluated the effects of germination promoters (gibberellic acid and sodium hypochlorite) on 7 accessions of *L. meyenii* with different procedures (AMA, RMA, NMA, AEZ, RAC and NAC), subjected to 3 thermal treatments (2-8°C, 4-15°C and 4-18°C). The fall in temperature delayed seed germination and emergence of seedlings. A strong association between both events was evidenced, and the acquisitions maintained the differences in their relative performance consistently in all the thermal treatments, suggesting intrinsic differences in the quality of the seeds according to their procedure. In relation to the germinative promoters, its application favors both stages, although no synergism was found between both promoters nor showed a reduced effect on the development of the seedlings. During the development of the seedlings, the decrease in temperature promoted the formation of smaller seedlings, showing low pigment concentrations (chlorophylls and carotenoids) and an early allocation to root growth due to thermal stress. In conclusion, it was evidenced that the temperature and the procedure of the material show the differences associated to the germinative performance and the application of germinative promoters favored these events to reduce the effects caused by the temperatures.

KEY WORDS: seed germination, emergence of seedlings, temperature, germination promoters, L. meyenii

I. INTRODUCCIÓN

La germinación y la emergencia son las dos etapas más importantes en el ciclo de vida de las plantas (Adkins, 2007; Baskin & Baskin, 2014). Estas determinan el eficiente uso de los nutrientes y captación de agua disponible para las plantas, para que puedan competir por un nicho ecológico (Forcella et al., 2000). Además, afectan directamente en el desarrollo y sobrevivencia de las plántulas. La germinación es el proceso en el que se forma una planta a partir de una semilla, abarcando todos los eventos que van desde la reactivación de la maquinaria metabólica en la semilla hasta la emergencia de la radícula y plúmula (Bewley & Bradford, 2013). Este proceso es seguido por la emergencia de las plántulas, que inicia cuando la plántula recién formada brota del suelo hacia la luz, produciéndose una serie de cambios severos como la coloración verde y la producción de hojas (Forcella et al., 2000).

Factores que influyen en la germinación de semillas y emergencia de plántulas

Los eventos de germinación y emergencia son controlados por factores propios de la semilla (intrínsecos) y por las características del entorno (extrínsecos) (Melorose et al., 2015). Los factores intrínsecos influyen tanto en el estado de la semilla en el momento de su maduración, como cualquier cambio fisiológico, morfológico y físico que precede a la germinación. De todos los factores involucrados, la dormancia y viabilidad de semillas son las que influyen en mayor grado en este proceso. La dormancia es un mecanismo que impide a la semilla germinar en un espacio y tiempo específicos, por lo general, cuando las condiciones ambientales no son propicias para la germinación (Finch-Savage & Leubner-Metzger, 2006). Este mecanismo involucra cambios en diferentes aspectos de la semilla, tanto físicos como bioquímicos. En la mayoría de los casos, involucra el engrosamiento de la cubierta de la semilla y la impermeabilización de la misma con la finalidad de impedir la entrada de agua y oxígeno e impedir que el embrión se expanda durante la germinación (Edwards, 1968). En otros casos, reguladores hormonales presentes en la semilla promueven o retardan la síntesis de enzimas clave para el inicio de la germinación. El ácido giberélico (AG_3) y el ácido abscísico (ABA) son claros ejemplos de esta regulación (Hilhorst, 1995; Khan, 1968; Müller, 2006). Mientras que el AG_3 rompe la dormancia al promover la síntesis de enzimas involucradas en la movilización de sustancias de reserva, el ABA favorece la dormancia al promover la

síntesis de proteínas y solutos que permiten tolerar la desecación producto de la embriogénesis. Por otro lado, la viabilidad de la semilla, definida como la capacidad de una semilla para germinar, determina su posterior éxito germinativo (Sawma & Mohler, 2002) y está ligada a diferentes características propias de la semilla, como lo son el peso y la longevidad de la semilla. Muchos estudios han demostrado que el peso de las semillas incluso de una misma planta puede variar enormemente y que esta variación puede afectar directamente en la germinación (Harper, 1970; Hendrix, 1984; Tripathi, 1990). Por lo general, las semillas de mayor peso muestran mayores porcentajes de germinación que las pequeñas y además suelen producir plántulas más vigorosas y grandes. No obstante, las semillas pequeñas germinan más rápido y se dispersan mejor que las grandes, lo que les otorga una ventaja competitiva. Otra característica a considerar es la longevidad de la semilla. Eventos como el desgaste de la cubierta y el embrión o la degradación de reguladores hormonales dependen del tiempo, y por tanto, de la longevidad (Timko & Satterfield, 2008). Se ha reportado en diferentes especies cultivables que el tiempo requerido para la germinación de estas especies se ha visto incrementado en semillas longevas que en semillas frescas (Abdul-Baki, 1973; Argerich, 1989; Van Loon, 1987). Esto supone que podría haber un tiempo adicional que requiere la semilla para reparar tejidos dañados y sustituir las hormonas degradadas con el tiempo.

A pesar que las características propias de la semilla actúan como un importante control en las primeras etapas de desarrollo de la planta, dependen directa o indirectamente de las condiciones ambientales (Adkins et al., 2007; Baskin & Baskin, 2014; Bewley & Bradford, 2013). Estos factores regulan eventos importantes como la salida del estado de dormancia, la tasa de germinación y la mortalidad durante el establecimiento de plántulas. Factores ambientales, como la temperatura, la intensidad de luz, la disponibilidad de agua, el pH y la salinidad del suelo son conocidos por tener un rol clave en los eventos de germinación y emergencia (Leishman, 2000; McLaren & McDonald, 2003; Windauer et al., 2012).

De todos los factores involucrados, la temperatura juega un papel importante en la determinación de la periodicidad de la germinación de semillas y, por tanto, afecta las tasas de crecimiento y el metabolismo celular en el embrión. Estudios han demostrado que la tasa de germinación aumenta linealmente con la temperatura, al menos en un rango

establecido, y disminuye bruscamente a temperaturas más altas (Alvarado & Bradford, 2002). Adicionalmente, se sabe que no todas las semillas germinan en el mismo rango de temperaturas, incluso las que provienen de una misma planta (Adkins et al., 2007). Es por esto que no sorprende que los eventos germinativos asociados a eventos térmicos estén relacionados con la distribución ecológica y geográfica de especies y ecotipos (Baskin & Baskin, 2014). Por lo general, las semillas presentan un rango de temperatura óptimo dentro del cual pueden germinar. Comúnmente, este rango está entre los 18°C y 25°C, aunque hay otras especies que necesitan temperaturas por encima de los 28°C o por debajo de los 4°C, e incluso algunas necesitan alternancias abruptas en la temperatura para poder germinar (Baskin & Baskin, 2014). Otros factores importantes, que afectan los eventos de germinación y emergencia, son la disponibilidad de agua, el pH y la salinidad. Estudios demostraron que semillas y/o plántulas sometidas a un estrés osmótico y salino pueden retrasar e incluso evitar la continuidad de los eventos (Ghorbani et al., 1999; Zhou et al., 2015).

Promotores de germinación

Si bien la captación de agua y una temperatura adecuada pueden ser suficientes para romper el estado de dormancia, algunas veces es necesaria la adición de otros agentes para promover la germinación. Estos agentes se conocen como promotores germinativos y pueden clasificarse según la naturaleza del compuesto: promotores naturales y promotores artificiales.

Por un lado, los promotores naturales son aquellos compuestos que son producidos por la propia planta con la finalidad de promover la germinación cuando las condiciones son apropiadas. De todos los compuestos registrados, son los del tipo hormonal las más utilizadas. La aplicación exógena de hormonas es una vía muy utilizada para favorecer la germinación. Si bien la semilla presenta de manera endógena estas hormonas, cuando la semilla entra en dormancia, estos niveles disminuyen drásticamente. Entre las hormonas utilizadas destacan las giberelinas, ya que están implicadas de una manera directa con el control y estímulo de la germinación. Estas hormonas, al ingresar en la semillas, incrementan sus niveles endógenos y generan un desbalance entre el ácido abscísico (ABA) y el ácido giberélico (AG_3) a favor de la última. Esto promueve la síntesis de α -amilasas, enzimas necesarias para la degradación de almidón en el endospermo, quedando

disponibles para procesos posteriores (Ogawa & Hanada, 2003). Diversos estudios han demostrado su eficacia en promover la germinación, incluso llegando a contrarrestar los efectos de las bajas temperaturas (Yamauchi et al., 2004). Por otro lado, los promotores artificiales son compuestos que la planta no produce de manera natural; sin embargo, posee efectos similares que los promotores naturales. Algunos de estos compuestos son producidos en situaciones particulares, como las karrikinas, formadas por la exposición de plantas a altas temperaturas (por ejemplo, incendios forestales) (Light et al., 2005). Otros compuestos están presentes en el tracto digestivo de especies frugívoras o granívoras, como el ácido clorhídrico (HCl), que actúa degradando la cubierta de la semilla en un proceso denominado escarificación. Esto favorece la germinación al permitir el intercambio de gases y la captación de agua necesaria para el inicio de la germinación y, posteriormente, facilita la emergencia de la radícula (Navarro & González, 2007). Además del ácido clorhídrico, otros compuestos también han sido utilizados, como el ácido sulfúrico (H₂SO₄) y el hipoclorito de sodio (NaClO), siendo este último el preferido a utilizar debido al fácil manejo y bajo coste de implementación.

Aunque se ha visto que tanto los factores ambientales como la aplicación de promotores germinativos pueden favorecer la germinación y el establecimiento de plántulas, la magnitud del efecto de los promotores germinativos varía notablemente según el ambiente en el que se encuentren. Adicionalmente, afecta el modo de respuesta de las especies que se desenvuelven en estas condiciones, siendo las más desafiantes las de los ecosistemas altoandinos.

Ecosistemas altoandinos y cultivo de *Lepidium meyenii* Walpers

Ubicado en zonas elevadas entre los 3000 y 5000 m.s.n.m., los ecosistemas altoandinos están caracterizados por tener una reducida presión atmosférica que, sumada a otras condiciones, como temperaturas fluctuantes y una menor disponibilidad de agua, generan un ambiente estresante para las especies residentes (Illies, 1980). Las precipitaciones en estas zonas varían constantemente y aunque son estacionales, no son del todo predecibles ya sea en su volumen o inicio (Baied & Wheeler, 1993). En el caso particular de Perú, los ecosistemas altoandinos se extienden a lo largo de la Cordillera de los Andes y, debido a la cercanía a la línea ecuatorial, posee características propias como: (a) mayores fluctuaciones en la temperatura diaria que en las estacionales, (b) una intensa radiación

solar debido a la verticalidad de los rayos solares y (c) heladas nocturnas la mayor parte del año (Illies, 1980).

A pesar de las condiciones adversas, la población local ha logrado con el tiempo domesticar y cultivar especies nativas de estas zonas. Entre estas especies, destaca en particular *Lepidium meyenii* Walpers (conocida comúnmente como “maca”) debido a que se desarrolla perfectamente bajo estas condiciones. Es una planta herbácea que pertenece a la familia Brassicaceae y es la única especie de esta familia domesticada en los Andes (Arbizu et al., 1991). Su particularidad es que está perfectamente adaptada a condiciones muy frías, donde el desempeño de otras especies cultivables se vería muy comprometido.

Si bien en un inicio las zonas de cultivo se restringían a las regiones de puna en los departamentos de Junín y Pasco, la creciente demanda de este producto tuvo como consecuencia la búsqueda de nuevas zonas cultivables, desde Pasco y Junín, pasando por Huancavelica, Apurímac y Cuzco, y llegando hasta Puno (Hermann & Bernet, 2009). Esta intensificación de zonas de cultivo de maca es debido al aprovechamiento del órgano de reserva que la planta produce, denominado hipocótilo. A este se le atribuyen propiedades medicinales basadas en su pigmentación, según la cual se le clasifica en ecotipos. Por ejemplo, diversos estudios demostraron que los hipocótilos de color rojo poseen propiedades antioxidantes, favorecen la regeneración ósea y reducen el tamaño de la próstata; mientras que las propiedades de los hipocótilos de color negro están más asociadas a la fertilidad masculina y femenina (Gonzales et al., 2010; Gonzales et al., 2005; Gonzalez et al., 2003; Yucra et al., 2008).

Planteamiento del problema

Entre las principales limitaciones que presenta este cultivo está la alta mortalidad de plántulas debido a las duras condiciones ambientales. Las heladas nocturnas y el retraso de las lluvias son las principales causas de mortalidad temprana, y en la mayoría de los casos, obliga a los productores a resembrar. Teniendo en cuenta que el inicio de la germinación de semillas es un factor clave en la supervivencia y establecimiento de plantas, y que predecir el momento de la emergencia de las plántulas es un componente crítico en el manejo de cultivos, sería de gran interés entender cómo estos eventos se ven afectados por las condiciones ambientales. Adicionalmente, la aplicación de promotores

germinativos podría favorecer el desempeño de las semillas y, posteriormente, el establecimiento de plántulas; sin embargo, no se conoce el efecto que estas tendrían en esta especie.

Cabe destacar que, aunque existe un interés comercial que ha ido creciendo en los últimos 10 años, aspectos como los mencionados anteriormente no se han estudiado aun. La mayor parte de la literatura científica relacionada con *L. meyenii* está enfocada en la determinación de sus propiedades medicinales y su posterior uso como complemento nutricional. Si bien existen trabajos asociados con el manejo agronómico del cultivo, hasta la fecha existen muy pocos trabajos que estén enfocados en las primeras fases de desarrollo de *L. meyenii*.

En este trabajo evaluamos el efecto de la temperatura y la aplicación de promotores germinativos en la germinación de semillas y emergencia de plántulas sobre accesiones de *L. meyenii*. Específicamente, se trabajaron con accesiones de localidades y colores de hipocótilo de procedencia distintos. Estas accesiones fueron sometidas a la aplicación de dos promotores germinativos, un promotor hormonal (ácido giberélico al 4%) y un promotor químico (hipoclorito de sodio al 4%). Estos experimentos se realizaron bajo 3 tratamientos térmicos (2-8°C, 4-15°C y 4-18°C), de acuerdo a diferentes situaciones registradas en campo.

II. HIPÓTESIS

El desempeño germinativo de *L. meyenii* Walpers se vería disminuido por el descenso de la temperatura, pero sería favorecido por la aplicación de promotores germinativos. Adicionalmente, se encontrarían diferencias entre accesiones debido a la procedencia del material.

III. OBJETIVOS

Objetivo general

1. Determinar qué factores están asociados al desempeño germinativo de *L. meyenii*

Objetivos específicos:

1. Determinar el efecto de la temperatura, las accesiones y la aplicación de promotores germinativos en la germinación de semillas.
2. Determinar el efecto de la temperatura, las accesiones y la aplicación de promotores germinativos en la emergencia de plántulas.
3. Evaluar asociaciones entre los procesos de germinación y emergencia.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Especie de estudio

Lepidium meyenii Walpers o “maca” (Brassicaceae) es una planta herbácea nativa de los Andes Peruanos. Presenta dos tipos de hojas, las que pertenecen a la roseta son más grandes (3 – 8 cm de largo), del tipo pinnatifida y medianamente liradas, mientras que las que están ubicadas en los tallos generativos son más pequeñas, enteras, lobadas o crenadas (Vaugh, 2009). Presenta estructuras florales dispuestas en panículas. Los frutos son silicuas de 4 – 5 mm de largo, dehiscentes con dos cavidades conteniendo una semilla en cada una de ellas. Las semillas son aovadas, con coloraciones que van desde el amarillo pasando por el rojo hasta llegar al marrón (Hermann & Heller, 1997). Lo que resalta de esta planta es que presenta un órgano de reserva denominado hipocótilo, un engrosamiento en la planta que posee una amplia gama de colores como el amarillo, rojo, negro, plomo, morado, blanco, entre otros (Quirós & Cárdenas, 2002). Aunque aún sigue el debate sobre la denominación de este órgano de reserva, algunos estudios afirman que es probable que sea una zona de transición entre el tallo y la raíz (Marin-Bravo, 2003).

L. meyenii es considerada una planta bienal debido a que posee un ciclo vegetativo donde se forma el hipocótilo seguido por una fase reproductiva donde se da la floración, fructificación y formación de semillas (Arbizu et al., 1991). La fase vegetativa inicia entre setiembre y octubre con la siembra de semillas coincidiendo con el inicio de la temporada de lluvias. Una vez que estas germinan, toman un periodo de 6 – 8 meses para desarrollarse, formar el hipocótilo y permitir que este aumente de tamaño. En este punto (mayo - junio) se procede a cosechar el hipocótilo para posteriormente secarlo exponiéndolo al sol, almacenarlo y/o comercializarlo. Este es el ciclo común que los productores realizan para este cultivo. Sólo algunos productores, en su mayoría abastecedores de semillas, continúan con la otra fase del ciclo de vida de la planta. Esta fase, llamada reproductiva, comienza luego del procesamiento de hipocótilos, que son seleccionados por su tamaño y color para ser sembrados entre agosto y setiembre. De esta forma se generan brotes principales y se forman los tallos generativos, una estructura que alberga las estructuras reproductivas. La planta entra en el periodo de floración entre octubre y noviembre, cuando la principal forma de fertilización es la autogamia, esto

debido al hecho de que no se han reportado polinizadores, más que el avistamiento de algunas especies de dípteros (Quirós & Cárdenas, 2002). Entre diciembre y enero se da la formación de silicuas, las cuales toman una coloración amarillenta cuando comienzan a madurar, y se cosechan entre fines de enero y las primeras semanas de marzo. Las plantas son cosechadas enteras, puestas a secar y luego se recolectan las semillas manualmente, separándolas de restos de hojas y piedras pequeñas.

2. Material biológico

Las accesiones de semillas se adquirieron, principalmente, a través de donaciones de diferentes productores de maca en las regiones de Junín y Pasco. Para la presente tesis, se utilizaron 7 accesiones: 4 accesiones procedentes de Junín (colores de hipocótilo amarillo, rojo, negro y morado) y 3 accesiones procedentes de Chupaca (colores de hipocótilo amarillo rojo y negro). De manera detallada, se muestra la lista de accesiones a continuación:

Tabla 1. Lista de accesiones por color de hipocótilo de procedencia, lugar de procedencia, año de cosecha y donante.

Código	Color	Departamento	Provincia	Distrito	Fecha de cosecha	Peso x 1000 semillas (g)	Donante
AMA	Amarillo	Junín	Junín	Junín	Noviembre 2015	0.822	Moisés Alderete Yali
RMA	Rojo	Junín	Junín	Junín	Noviembre 2015	0.687	Moisés Alderete Yali
NMA	Negro	Junín	Junín	Junín	Noviembre 2015	0.790	Moisés Alderete Yali
MMA	Morado	Junín	Junín	Junín	Noviembre 2015	0.675	Moisés Alderete Yali
AEZ	Amarillo	Junín	Chupaca	Yanacancha	Noviembre 2015	0.835	Efraín Zúñiga Molina
NAC	Negro	Junín	Chupaca	Yanacancha	Noviembre 2015	0.428	Arturo Cárdenas Condori
RAC	Rojo	Junín	Chupaca	Yanacancha	Noviembre 2015	0.423	Arturo Cárdenas Condori

3. Diseño Experimental

Con el objetivo de evaluar el efecto de la temperatura, las accesiones y los promotores germinativos sobre la germinación de semillas y emergencia de plántulas, se implementó

un diseño factorial considerando como tratamientos: (a) accesiones de *L. meyenii* (b) ácido giberélico, (c) hipoclorito de sodio y (d) tratamiento térmico.

Respecto a la aplicación de promotores germinativos, los tratamientos inductores fueron: (1) tratamiento hormonal, que consistió en sumergir o no semillas en ácido giberélico (Gibberellin 80%, SIGMA, USA) al 4% por 1 h (Hsiao, 1980; Nord, 1971), y (2) tratamiento químico escarificante que consistió en sumergir o no semillas en hipoclorito de sodio (lejía comercial Clorox 4%, Perú) al 4% por 10 min (Hsiao, 1980; Hsiao, 1979b).

Respecto a los tratamientos térmicos, se establecieron 3 tratamientos térmicos (4 – 18 °C, 4 – 15°C y 2 – 8°C) que fueron determinados a partir de valores de la temperatura del suelo obtenidos en salidas de campo a algunas zonas productoras de maca en el departamento de Junín, además de los valores de temperatura del suelo disponibles en el Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología (SENAHMI). Cada tratamiento térmico consideró como termo periodo: 16 h para la temperatura baja y 8 h para la temperatura alta, debido a que para temperaturas alternas el período diario de exposición a la temperatura alta o baja debe ser entre 4.5 a 8 h (Baskin & Baskin, 2014); siendo este caso 8 h para la temperatura más cálida (Anexo – Esquema 1). Dichos rangos de temperatura se evaluaron en una cámara de crecimiento KBW-400 (Binder, Alemania). En el caso de la germinación, los ensayos fueron implementados en completa oscuridad, mientras que en el ensayo de emergencia de plántulas se utilizó luz fluorescente (Daylight tubes light color 865, Binder, Alemania) durante las 8 h de mayor temperatura de cada tratamiento térmico.

En cada tratamiento térmico, se consideraron 28 grupos experimentales a partir de la combinación de tratamientos (7 accesiones x 2 tratamientos hormonales x 2 tratamientos químicos).

4. Evaluación de la germinación de semillas

La germinación se realizó en placas Petri en las que se sembraron 25 semillas utilizando como sustrato papel absorbente (Anexo – Imagen 1). Se trabajó con 4 réplicas por cada

grupo experimental, que se pusieron a germinar por un periodo de 20 días para cada tratamiento térmico.

La evaluación consistió en hacer un registro diario de semillas germinadas por placa. El criterio para considerar la semilla germinada fue la aparición de la radícula. Se reportaron las siguientes variables (Anjum & Bajwa, 2005; Ranal & Santana, 2006):

Porcentaje de germinación: Es la proporción de semillas germinadas sobre el total de semillas. Se utilizó la siguiente fórmula:

$$\%G = \frac{N_i}{N_t} \times 100$$

N_i: número de semillas germinadas en el día *i*, *N_t*: número total de semillas

Velocidad de germinación: Es la relación entre el número de semillas germinadas con el tiempo de germinación. Para ello se utilizó la siguiente fórmula:

$$AS = \left(\frac{N_1}{1} + \frac{N_2}{2} + \frac{N_3}{3} + \dots + \frac{N_n}{n} \right)$$

N₁, N₂, N₃, ..., N_n: número acumulado de semillas germinadas en el tiempo 1, 2, 3, ..., *n*

T₅₀: Es definido como el número de días requeridos para alcanzar el 50% de germinación por cada accesión.

5. Evaluación de la emergencia de plántulas

En cada tratamiento térmico y por cada grupo experimental (N = 28), se implementaron 4 bloques ubicados aleatoriamente en dos bandejas germinadoras (Anexo – Imagen 2). Cada bloque está constituido de 8 pocillos y en cada pocillo se sembró 3 semillas cubiertas por una capa de ca. 2 a 5 mm de tierra (total de 112 bloques). Cada pocillo (volumen = 3.4 cm³), fue llenado con sustrato Sunshine Mix #3 (Sun Gro Horticulture Inc., USA) y regado a capacidad de suelo cada 4 días. La emergencia fue monitoreada diariamente por un periodo de 30 días.

Contabilizamos el número de plántulas que emergieron en cada pocillo durante cada día del experimento. El criterio para considerar que emergió una plántula fue la observación de los cotiledones sobre la superficie del suelo (Anexo – Imagen 3). Se reportaron las siguientes variables (Anjum & Bajwa, 2005; Ranal & Santana, 2006):

Porcentaje de emergencia: Es la proporción de plántulas que emergieron sobre el total de semillas sembradas utilizando la siguiente fórmula:

$$\%E = \frac{N_i}{N_t} \times 100$$

N_i: número de plántulas que emergieron en el día *i*, *N_t*: número total de semillas sembradas

Velocidad de emergencia: Es la relación entre el número de plántulas que emergieron con el tiempo de emergencia. Se utilizó la siguiente fórmula:

$$AS_e = \left(\frac{N_1}{1} + \frac{N_2}{2} + \frac{N_3}{3} + \dots + \frac{N_n}{n} \right)$$

N₁, N₂, N₃, ..., N_n: número acumulado de plántulas que emergieron en el tiempo 1, 2, 3, ..., *n*

Variables fenotípicas de las plántulas

Con el propósito de evaluar las características fenotípicas de las plántulas obtenidas de los tratamientos con los promotores germinativos (hormonal y químico) sobre las 7 accesiones de *L. meyenii*, se evaluaron al día 30 las siguientes variables:

Variables morfológicas:

Se tomaron 8 plántulas por cada grupo y fueron limpiadas cuidadosamente antes de ser fotografiadas con un fondo contrastante y escala. Estas fotografías fueron analizadas posteriormente utilizando el software ImageJ para obtener las variables (1) altura de plántula y (2) longitud de raíz.

Contenido de pigmentos:

Se tomaron 5 réplicas por cada grupo, se pesaron 4 plántulas por réplica y se colocaron en un tubo Eppendorf con 1.5 mL de etanol al 96% para ser trituradas. Posteriormente,

las muestras fueron almacenadas a 4°C antes de realizar la medición. Para esto, las muestras fueron centrifugadas a 9250 rpm por 2 minutos y se trabajó con el sobrenadante. Se procedió a leer 300 µL de cada muestra en una placa de Elisa en un lector (SpectraMax 190, Molecular Devices, USA) a 470, 648 y 664 nm para obtener la concentración de clorofila a, clorofila b y carotenoides. Las absorbancias fueron corregidas con un blanco de etanol. A partir de estos valores se obtuvieron las siguientes variables: (1) contenido de clorofilas totales, (2) contenido de carotenoides, (3) proporción clorofila (a/b) y (4) proporción clorofilas totales/carotenoides, utilizando las siguientes fórmulas (Lichtenthaler & Buschmann, 2005):

$$C_a = \frac{(13.36 A_{664} - 5.19 A_{648}) * VF}{FW}$$

$$C_b = \frac{(27.43 A_{648} - 8.12 A_{664}) * VF}{FW}$$

$$C_{a+b} = \frac{(5.24 A_{664} + 22.24 A_{648}) * VF}{FW}$$

$$C_{x+c} = \frac{(4.785 A_{470} + 3.657 A_{664} - 12.76 A_{648}) * VF}{FW}$$

Donde: VF = Volumen final (mL) y FW = Peso fresco (g)

6. Análisis Estadísticos

Con la finalidad de evaluar los efectos de la aplicación de los promotores germinativos y las accesiones sobre las variables estudiadas (porcentajes y velocidades de germinación y emergencia, así como los atributos fenotípicos), se utilizó un ANOVA de 3 vías factorial. El modelo consideró como factores la accesión (A), la aplicación del ácido giberélico como promotor hormonal (H) y la aplicación del hipoclorito de sodio como promotor químico (E). Este modelo fue realizado en cada tratamiento térmico.

Además, exploramos si el porcentaje y la velocidad de emergencia pueden ser explicados por la germinación. Para el porcentaje de emergencia, implementamos un modelo lineal (LM), que tuvo como predictores el porcentaje de germinación y el tratamiento térmico. De modo similar, para la velocidad de emergencia usamos como predictores la velocidad

de germinación y el tratamiento térmico. Todos los análisis se realizaron con el software Statistica (Statsoft) y las gráficas fueron hechas utilizando el software SigmaPlot (Systat Software Inc.)

V. RESULTADOS

1. Germinación de semillas

1.1. Efecto de la temperatura en la germinación de semillas

El descenso de temperatura retrasó la germinación y su velocidad, incrementando el T_{50} (Fig. 1 y Fig. 3). A medida que los tratamientos correspondían a menores temperaturas, se requirió 6, 8, y 14 días, respectivamente para alcanzar el 50% de germinación global (promedio de todos los tratamientos).

En todas las condiciones térmicas evaluadas, tanto el porcentaje y la velocidad de germinación fueron afectados significativamente por la accesión (A), hormona (H), escarificación (E), y la interacción H x E (Tabla 2 y 3). Adicionalmente, sobre el porcentaje de germinación, fueron significativas las interacciones dobles A x E (en los tratamientos de 2-8°C y 4-15°C), A x H (4-18°C), y la interacción triple A x E x H (4-15°C y 4-18°C). Sobre la velocidad de germinación, todas las interacciones fueron significativas.

1.2. Comportamiento germinativo de las accesiones de *L. meyenii*

En los tres tratamientos térmicos, la accesión amarilla de Chupaca (AEZ) mostró el mejor desempeño, seguida de tres accesiones de Junín (AMA, RMA, NMA). El desempeño de la accesión morada de Junín (MMA) fue mejorando con el incremento de la temperatura hasta equiparar a las otras accesiones de la misma procedencia (Fig. 2, Fig. 3). Las accesiones roja y negra de Chupaca (RAC y NAC, respectivamente), registraron los porcentajes y velocidades de germinación más bajos, y los T_{50} mayores, en comparación con el resto de accesiones (Tabla 4). Cabe resaltar que las dos accesiones de menor desempeño (RAC y NAC), tuvieron el menor peso de semilla en comparación con el resto de accesiones (Fig. 6).

1.3. Efecto de la aplicación de promotores germinativos en la germinación de semillas

En todos los tratamientos térmicos, la aplicación de los promotores germinativos favoreció significativamente la germinación de semillas y la velocidad de germinación (Tabla 2, Tabla 3, Anexo – Imagen 4). La aplicación de ácido giberélico o de hipoclorito

de sodio incrementó sustancialmente la germinación de semillas, duplicando el porcentaje de germinación respecto al grupo control en la mayoría de los casos (Fig. 5). Sin embargo, la aplicación simultánea de los promotores no tuvo un efecto sinérgico.

2. Emergencia de plántulas

2.1. Efecto de la temperatura en la emergencia de plántulas

El descenso de temperatura retrasó la emergencia y su velocidad, incrementando el T_{50} (Fig. 1 y Fig. 3). A medida que los tratamientos correspondían a menores temperaturas, alcanzar el 50% de emergencia global, requirió 11, 21, y 26 días, respectivamente. Sobre el porcentaje de emergencia (Tabla 5), todos los efectos fueron significativos en el tratamiento 2-8°C, y en casi todos en los tratamientos de 4-15°C (excepto la interacción A x E), y de 4-18°C (excepto las interacciones A x H y A x E). Sobre la velocidad de emergencia (de igual manera que sobre el porcentaje de germinación), todos los efectos fueron significativos en el tratamiento 2-8°C, y en casi todos en los tratamientos de 4-15°C (excepto la interacción A x E), y de 4-18°C (excepto la interacción triple A x H x E) (Tabla 6).

2.2. Diferencias entre accesiones de *L. meyenii* en la emergencia de plántulas

En todas las condiciones térmicas evaluadas (de manera similar a lo encontrado en la germinación de semillas), las accesiones roja y negra de Chupaca (RAC y NAC) tuvieron los más bajos porcentajes y velocidades de emergencia en comparación con el resto de accesiones (Fig. 2 y 3).

2.3. Efecto de la aplicación de promotores germinativos en la emergencia de plántulas

La aplicación de promotores germinativos favoreció sustancialmente la emergencia de plántulas en todas las temperaturas evaluadas, llegando en la mayoría de los casos a ser dos veces mayor que las plántulas control (Fig. 9). De modo inesperado, en algunas accesiones la aplicación de ambos promotores de germinación no favoreció la emergencia comparada con la aplicación individual de cada promotor. Este fue el caso en el tratamiento de 4-15°C, para las accesiones roja y negra de Junín (RMA y NMA) y la negra de Chupaca (NAC), donde el porcentaje de emergencia fue mayor en semillas escarificadas químicamente que en el tratamiento combinado con hormona (Fig. 4).

2.4. Efectos sobre el fenotipo de las plántulas

2.4.1. Variables morfológicas

Las variables morfológicas mostraron una reducción con el descenso de la temperatura (Fig. 10 y 11, Anexo – Imagen 5). Las plántulas sometidas a la temperatura más elevada (4-18°C), tuvieron casi el doble de altura respecto a los otros tratamientos térmicos, y la longitud radicular casi 2.5 veces que en las plántulas sometidas a las menores temperaturas (2-8°C).

En relación a la altura de la plántula (Tabla 7), prácticamente todos los efectos fueron significativos en los tres tratamientos térmicos (excepto para 2-8°C: la interacción triple A x H x E, y para 4-18°C: E y la interacción H x E). En relación a la longitud de raíz, en los tratamientos 2-8°C y 4-15°C, detectamos efectos significativos de la accesión y la escarificación, y las interacciones dobles A x H, A x E. Adicionalmente, tuvo efecto significativo la interacción triple A x H x E únicamente en el tratamiento 2-8°C. Finalmente, en el tratamiento 4-18°C fueron significativos únicamente la accesión y la interacción doble A x E.

En lo que respecta a la accesión, se encontró que la altura de plántula no mostró un patrón consistente en todos los tratamientos térmicos (Fig. 10). Por ejemplo, si bien se evidenció que en la temperatura más alta (4-18°C) las accesiones roja y negra de Chupaca (RAC y NAC) mostraron plántulas de menor altura, esto no ocurrió en los otros tratamientos térmicos. En cuanto a la longitud de raíz, las diferencias entre accesiones variaron con la temperatura. La accesión amarilla de Chupaca (AEZ) mostró las raíces más largas solo en la temperatura más baja (2-8°C, Fig. 11), mientras que la accesión roja procedente de Chupaca (RAC) presentó las raíces más cortas a temperaturas más altas (4-15°C y 4-18°C).

2.4.2. Contenido de pigmentos fotosintetizadores

Se encontró que los contenidos de clorofilas totales y carotenoides de plántulas fueron mayores a temperaturas intermedias (4-15°C), siendo en algunos casos 5 veces que lo observado a bajas temperaturas (2-8°C). A mayores temperaturas, la proporción clorofilas (a/b) descendió (ca. 3), mientras la proporción clorofilas totales/carotenoides incrementó (ca. 5 a 6; Fig. 7 y 8).

En todos los tratamientos térmicos, la accesión tuvo un efecto significativo sobre todas las variables evaluadas relacionadas a pigmentos fotosintetizadores (Tabla 8). En relación al contenido de clorofilas totales, el tratamiento 4-15°C tuvo efecto significativo en la interacción A x H; mientras que en el tratamiento 4-18°C tuvieron efecto significativo la hormona y la interacción H x E. Para el contenido de carotenoides, tuvo efecto significativo la escarificación (4-18°C) y la interacción A x H (4-15°C). Para la proporción clorofila a/b tuvo significancia la hormona (4-18°C), mientras que para la proporción clorofilas totales/carotenoides tuvo significancia la interacción A x E (4-15°C).

En lo que respecta a la accesión, se evidenció que las diferencias entre accesiones variaron notablemente con la temperatura. De forma particular, se encontró que en la temperatura intermedia (4-15°C) las accesiones roja y negra de Chupaca (RAC y NAC) mostraron los niveles más bajos de clorofilas totales y carotenoides (Fig. 5). No obstante, estas accesiones mostraron los niveles más elevados a mayor temperatura (4-18°C). Respecto a las proporciones entre pigmentos, se evidenció que las diferencias entre accesiones fueron más notorias a bajas temperaturas (2-8°C). Las accesiones amarilla y roja de Junín (AMA y RMA) y negra de Chupaca (NAC) mostraron los valores más elevados de la proporción clorofilas (a/b), y los valores más bajos en la proporción clorofilas totales/carotenoides (Fig. 7 y 8), indicando que estas accesiones presentaron las plántulas menos desarrolladas.

3. Relación entre los procesos de germinación y emergencia

Se evidenció que los procesos de emergencia están fuertemente asociados a los procesos de germinación. Se encontró que tanto el porcentaje y velocidad de emergencia mostraron una fuerte relación con el porcentaje y velocidad de germinación respectivamente (Fig. 11). Adicionalmente, se evidenciaron diferencias en la velocidad de emergencia asociadas al termoperiodo.

Tabla 2: ANOVA de 3 vías con interacción para los efectos de la accesión y la adición de un promotor hormonal y/o químico en el porcentaje de germinación de semillas de *L. meyenii* sometidas a 3 tratamientos térmicos. Se muestran los valores de los estadísticos F y con asterisco se indica el valor de p. También se muestran los valores del coeficiente de determinación (R^2) de cada tratamiento térmico.

	Df	2 - 8°C	4 - 15°C	4 - 18°C
Accesión (A)	6	62.82***	83.48***	41.96***
Hormona (H)	1	118.56***	168.64***	130.57***
Escarificación (E)	1	34.16***	101.59***	65.76***
A x H	6	1.3	2.15	3.68**
A x E	6	4.61**	4.29**	2.11
H x E	1	27.08***	54.17***	61.07***
A x H x E	6	1.58	5.13**	3.44**
R^2		87.75%	91.42%	87.05%

* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$

Tabla 3: ANOVA de 3 vías con interacción para los efectos de la accesión y la adición de un promotor hormonal y/o químico en la velocidad de germinación sometida a 3 tratamientos térmicos. Se muestran los valores de los estadísticos F y con asterisco se indica el valor de p. También se muestran los valores del coeficiente de determinación (R^2) de cada tratamiento térmico.

	df	2 - 8°C	4 - 15°C	4 - 18°C
Accesión (A)	6	117.04***	105.11***	115.92***
Hormona (H)	1	179.49***	70.59***	67.33***
Escarificación (E)	1	73.70***	68.79***	51.90***
A x H	6	4.13**	2.52*	2.49*
A x E	6	4.27**	4.33**	3.72**
H x E	1	43.50***	45.89***	36.78***
A x H x E	6	4.36**	3.57**	2.43*
R^2		92.76%	91.27%	91.49%

* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$

Tabla 4: Valores de T_{50} (en días) por cada accesión en los 3 tratamientos térmicos.

Accesión	T50 (días)		
	2 - 8°C	4 - 15°C	4 - 18°C
NMA	11	8	6
AEZ	12	7	6
RMA	13	8	6
AMA	12	7	6
MMA	12	7	6
RAC	14	9	7
NAC	16	10	7

T_{50} = Número días que se requiere para alcanzar el 50 % de germinación de semillas

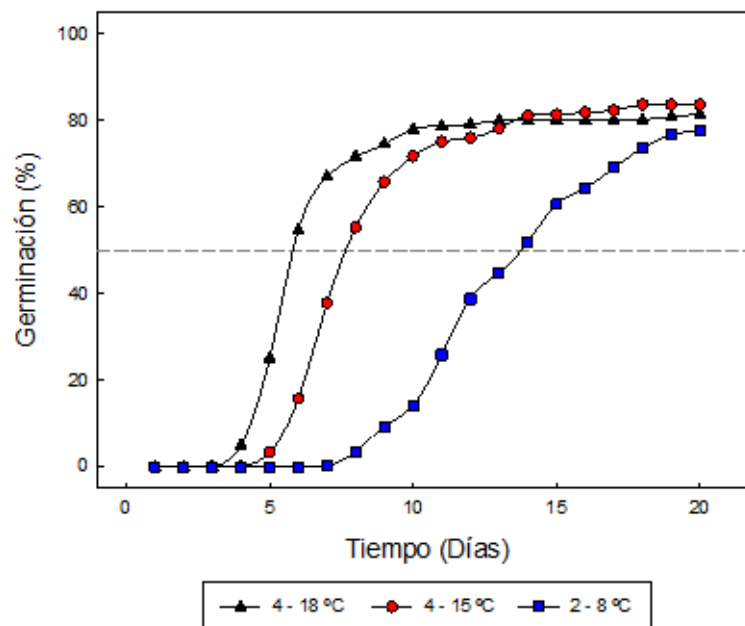


Figura 1: Germinación de semillas de *L. meyenii* sometidas a 3 tratamientos térmicos. El 50% de germinación se indica con una línea gris.

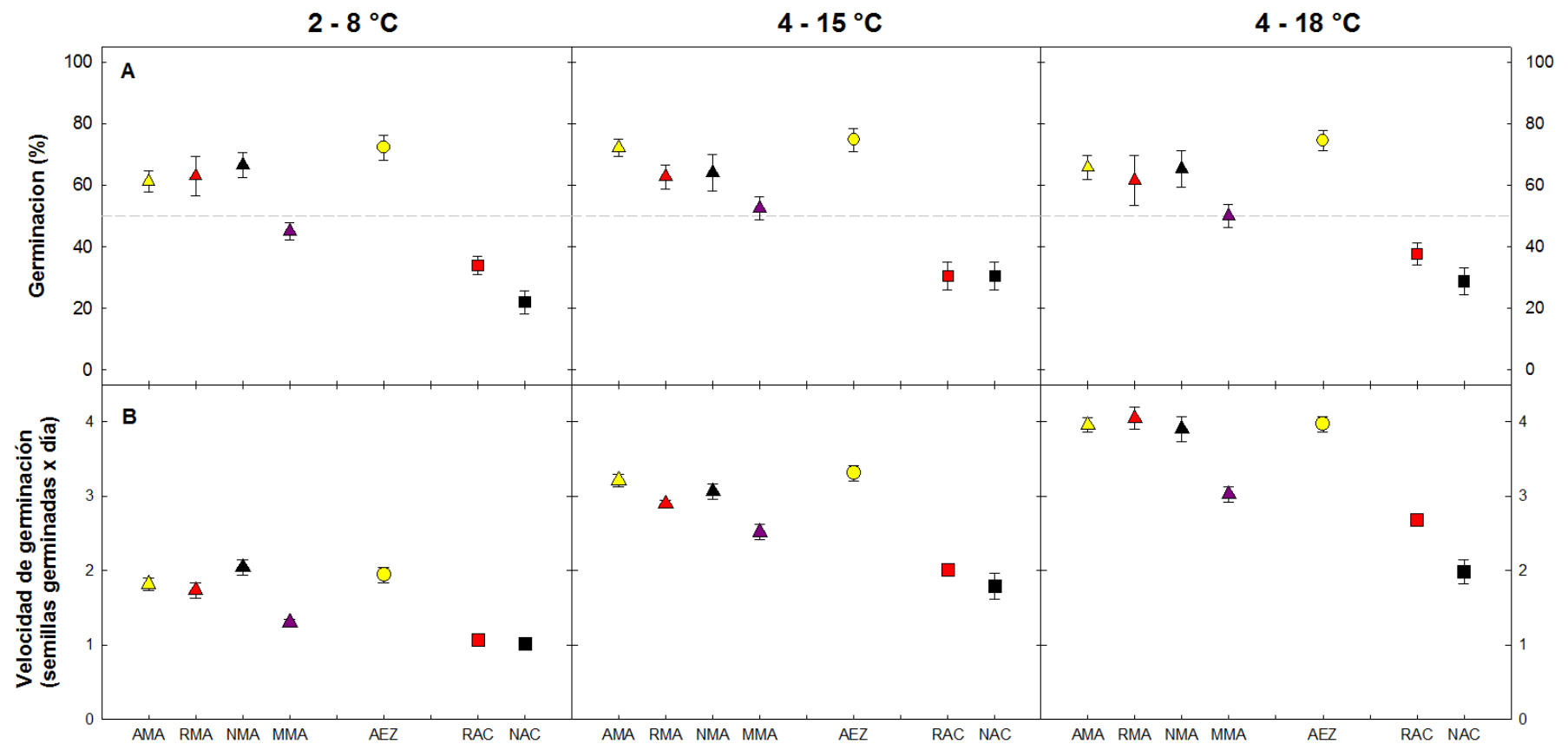


Figura 2: Porcentaje de germinación (A) y velocidad de germinación (B) de semillas de *L. meyenii* visto por accesiones. Las líneas punteadas indican el 50% de germinación. Los colores de los símbolos indican el color de hipocótilo de procedencia, mientras que la forma indica la procedencia (productor) teniendo el siguiente orden: Junín (M. Alderete, ▲) y Chupaca (E. Zúñiga, ●; A. Cárdenas, ■). Se muestran los valores obtenidos en cada tratamiento térmico (medias \pm error estándar).

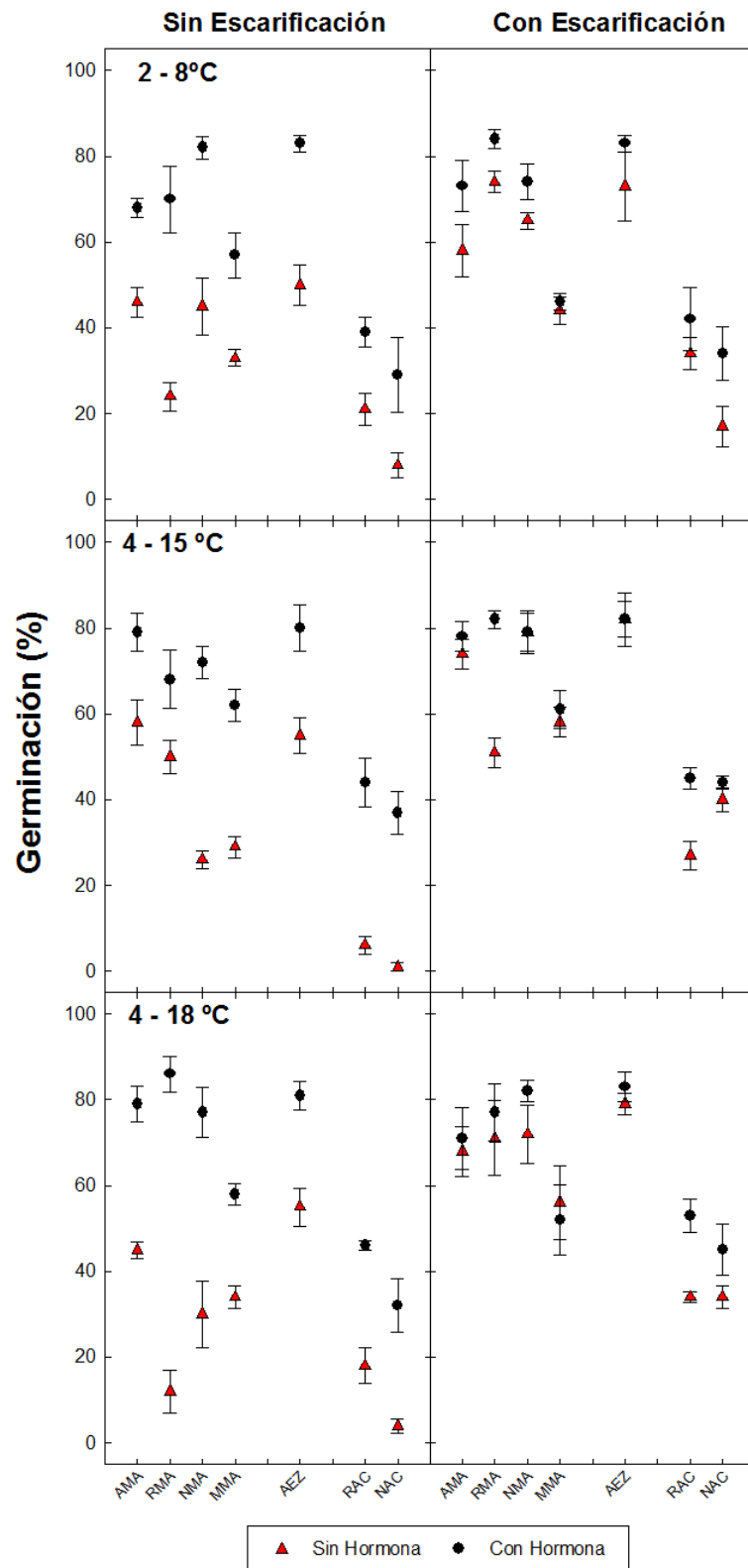


Figura 3: Porcentaje de germinación de semillas de *L. meyenii* sometidas a la aplicación de 2 promotores germinativos en 3 tratamientos térmicos. Se muestran las medias \pm error estándar.

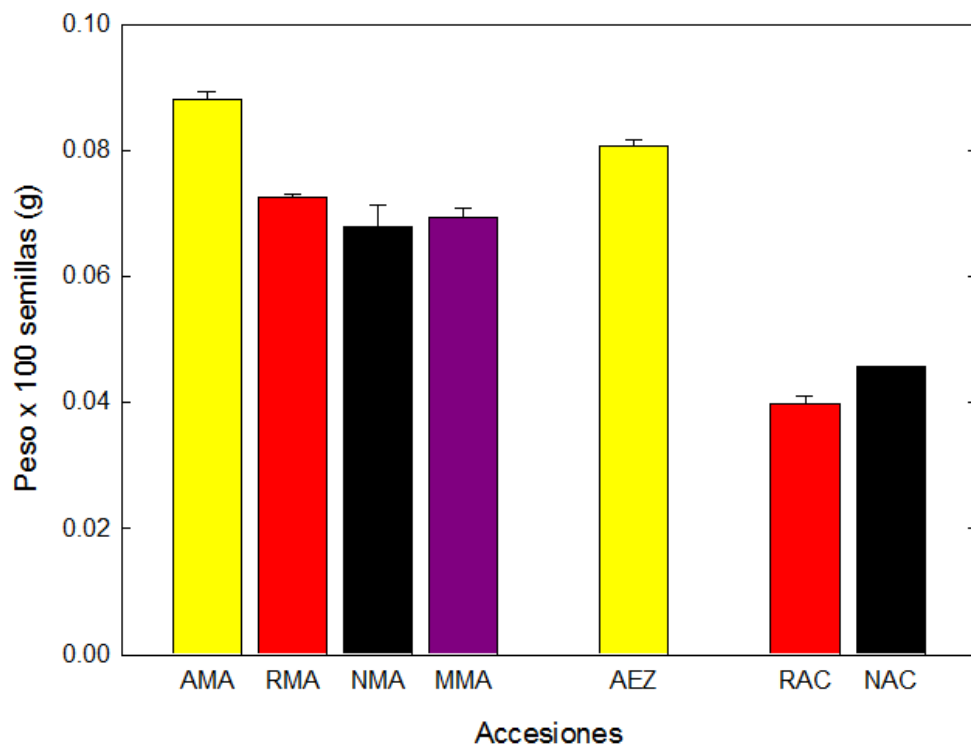


Figura 4: Peso de semillas en accesiones de *L. meyenii*. El peso mostrado es el peso de 100 semillas. Se muestran las medias \pm error estándar.

Tabla 5: ANOVA de 3 vías con interacción para los efectos de la accesión y la adición de un promotor hormonal y/o químico en el porcentaje de emergencia de plántulas de *L. meyenii* sometidas a 3 tratamientos térmicos. Se muestran los valores de los estadísticos F y con asterisco se indica el valor de p. También se muestran los valores del coeficiente de determinación (R^2) de cada tratamiento térmico.

	Df	2 - 8°C	4 - 15°C	4 - 18°C
Accesión (A)	6	31.35***	18.71***	23.66***
Hormona (H)	1	130.55***	42.85***	185.98***
Escarificación (E)	1	44.94***	36.04***	91.47***
A x H	6	2.98*	5.70***	2.03
A x E	6	3.30*	1.81	1.38
H x E	1	56.96***	72.48***	69.29***
A x H x E	6	4.01**	5.18***	2.85*
R^2		35.72%	28.13%	37.75%

* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$

Tabla 6: ANOVA 3 vías con interacción para los efectos de la accesión y la adición de un promotor hormonal y/o químico en la velocidad de emergencia sometida a 3 tratamientos térmicos. Se muestran los valores de los estadísticos F y con asterisco se indica el valor de p. También se muestran los valores del coeficiente de determinación (R^2) de cada tratamiento térmico.

	Df	2 - 8°C	4 - 15°C	4 - 18°C
Accesión (A)	6	42.76***	26.94***	31.62***
Hormona (H)	1	100.85***	93.25***	83.87***
Escarificación (E)	1	52.55***	62.70***	63.62***
A x H	6	2.24*	7.33***	2.70*
A x E	6	2.58*	1.56	2.24*
H x E	1	57.57***	104.00***	46.11***
A x H x E	6	2.92*	3.17*	1.08
R^2		37.19%	36.27%	32.58%

* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$

Tabla 7: ANOVA de tres vías con interacción para los efectos de la accesión y la adición de un promotor hormonal y/o químico en dos variables morfológicas sometidas a 3 tratamientos térmicos. Se muestran los valores de los estadísticos F y con asterisco se indica el valor de p. También se muestran los valores del coeficiente de determinación (R^2) de cada tratamiento térmico.

	Df	Altura de plántula			Longitud de raíz		
		2 - 8°C	4 - 15°C	4 -18°C	2 - 8°C	4 - 15°C	4 -18°C
Accesión (A)	6	14.70***	18.59***	5.96***	39.14***	4.29**	5.33***
Hormona (H)	1	13.96**	5.52*	9.37*	0.07	0.001	0.05
Escarificación (E)	1	7.42*	8.71*	1.53	4.69*	7.64*	2.09
A x H	6	7.18***	3.49*	6.62***	9.98***	6.32***	1.02
A x E	6	6.07***	7.78***	4.35***	2.57*	7.24***	2.23*
H x E	1	9.18*	11.79**	1.19	0.05	0.47	0.04
A x H x E	6	1.52	4.11**	2.80*	2.64*	1.33	1.31
R^2		19.29%	20.94%	13.07%	27.59%	12.43%	6.62%

* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, *** $p < 0.0001$

Tabla 8: ANOVA de tres vías con interacción para los efectos de la accesión y la adición de un promotor hormonal y/o químico en el contenido y proporción de pigmentos fotosintéticos sometidos a 3 tratamientos térmicos. Se muestran los valores de los estadísticos F y con asterisco se indica el valor de p. También se muestran los valores del coeficiente de determinación (R^2) de cada tratamiento térmico.

	Df	Clorofila total (Ca+b)			Carotenoides (Cx+c)			Clorofila a/b (Ca/b)			Clorofila total /Carotenoides (Ca+b/x+c)		
		2 - 8°C	4 - 15°C	4 -18°C	2 - 8°C	4 - 15°C	4 -18°C	2 - 8°C	4 - 15°C	4 -18°C	2 - 8°C	4 - 15°C	4 -18°C
Accesión (A)	6	6.25***	4.44**	18.37***	2.11	4.83**	20.11***	5.84***	2.39*	3.97*	11.43***	17.10***	15.44***
Hormona (H)	1	0.12	3.15	4.90*	0.08	2.18	3.77	0.53	0.22	5.02*	1.77	3.78	0.13
Escarificación (E)	1	0.06	0.30	2.54	0.19	0.59	4.04*	0.78	3.91	0.07	0.003	1.82	1.71
A x H	6	1.11	2.97*	0.64	0.78	3.05*	0.57	0.21	0.85	0.84	1.19	0.35	0.35
A x E	6	0.80	1.36	1.61	0.69	1.14	1.75	0.08	2.06	0.85	0.43	6.17***	1.52
H x E	1	0.11	1.11	4.03*	1.64	1.33	2.77	1.84	1.03	0.60	1.02	0.18	0.08
A x H x E	6	0.44	0.88	1.02	0.68	0.90	0.93	1.15	0.69	0.78	0.64	1.06	0.75
R^2		31.68%	35.79%	55.79%	19.67%	36.21%	57.37%	29.47%	26.86%	28.35%	43.11%	57.87%	49.61%

*p<0.05, **p<0.001, ***p<0.0001

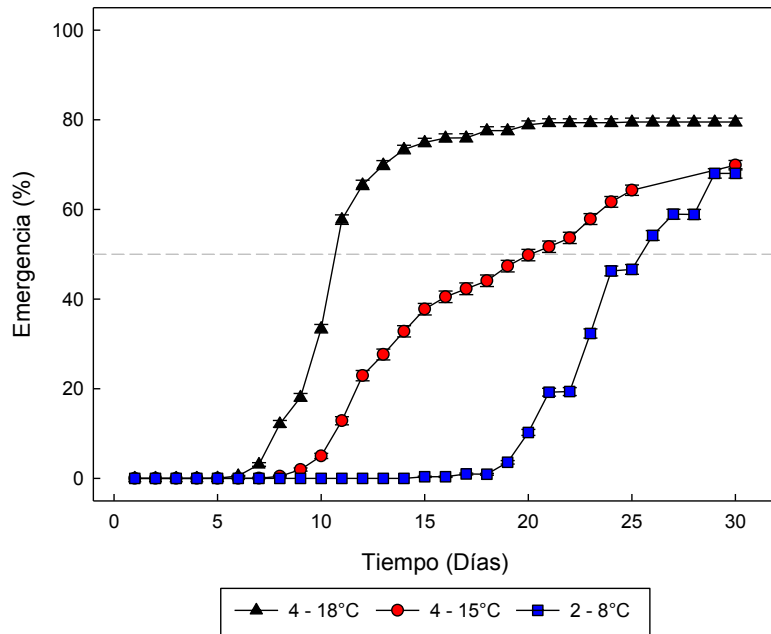


Figura 5: Emergencia de plántulas de *L. meyenii* sometidas a 3 tratamientos térmicos. El 50% de germinación se indica con una línea gris.

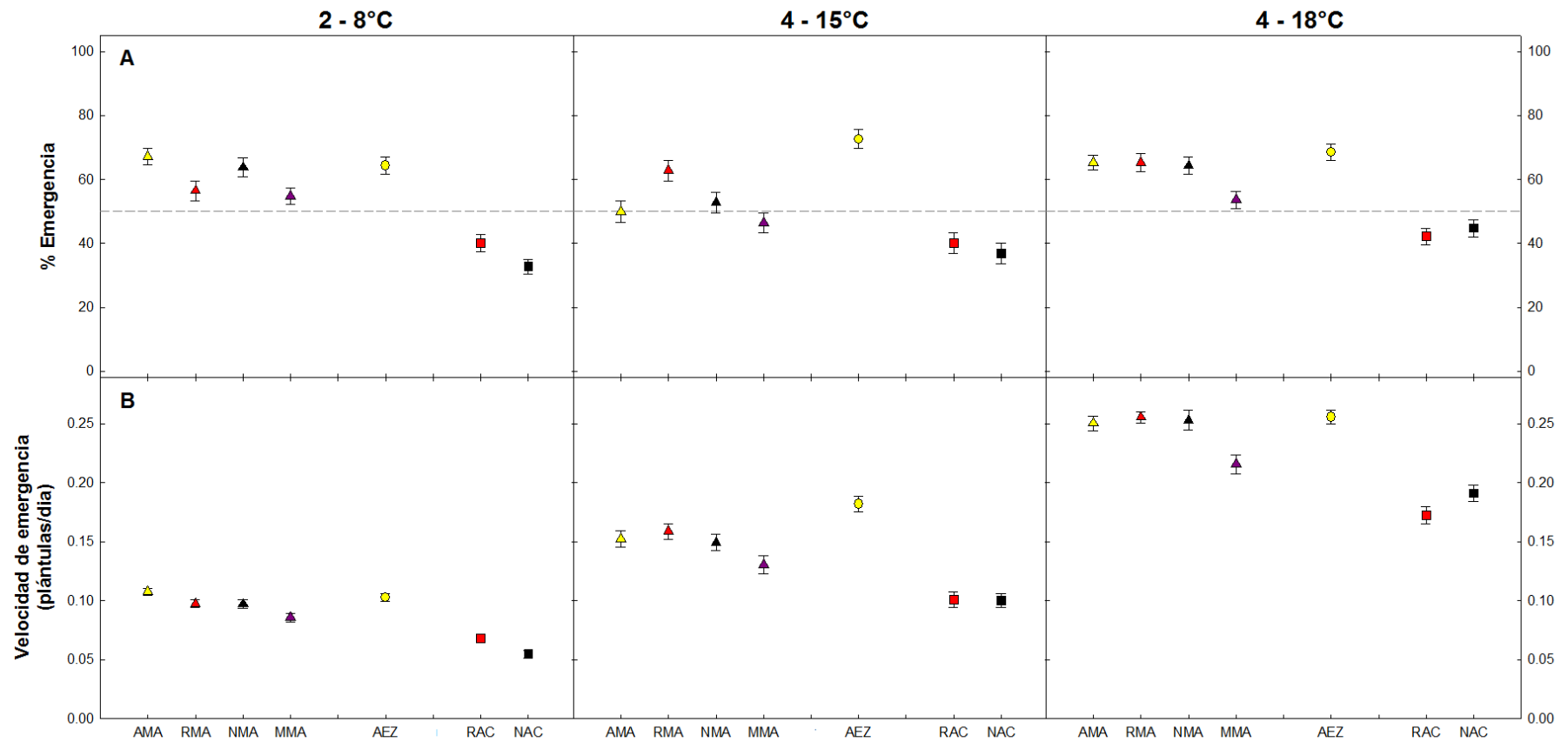


Figura 6: Porcentaje (A) y velocidad de emergencia (B) de plántulas de *L. meyenii* sometidas a 3 tratamientos térmicos. Con líneas punteadas se indica el 50% de emergencia. Los colores de los símbolos indican el color de hipocótilo de procedencia, mientras que la forma indica la procedencia (productor) teniendo el siguiente orden: Junín (M. Alderete, ▲) y Chupaca (E. Zúñiga, ●; A. Cárdenas, ■). Se muestran las medias \pm error estándar.

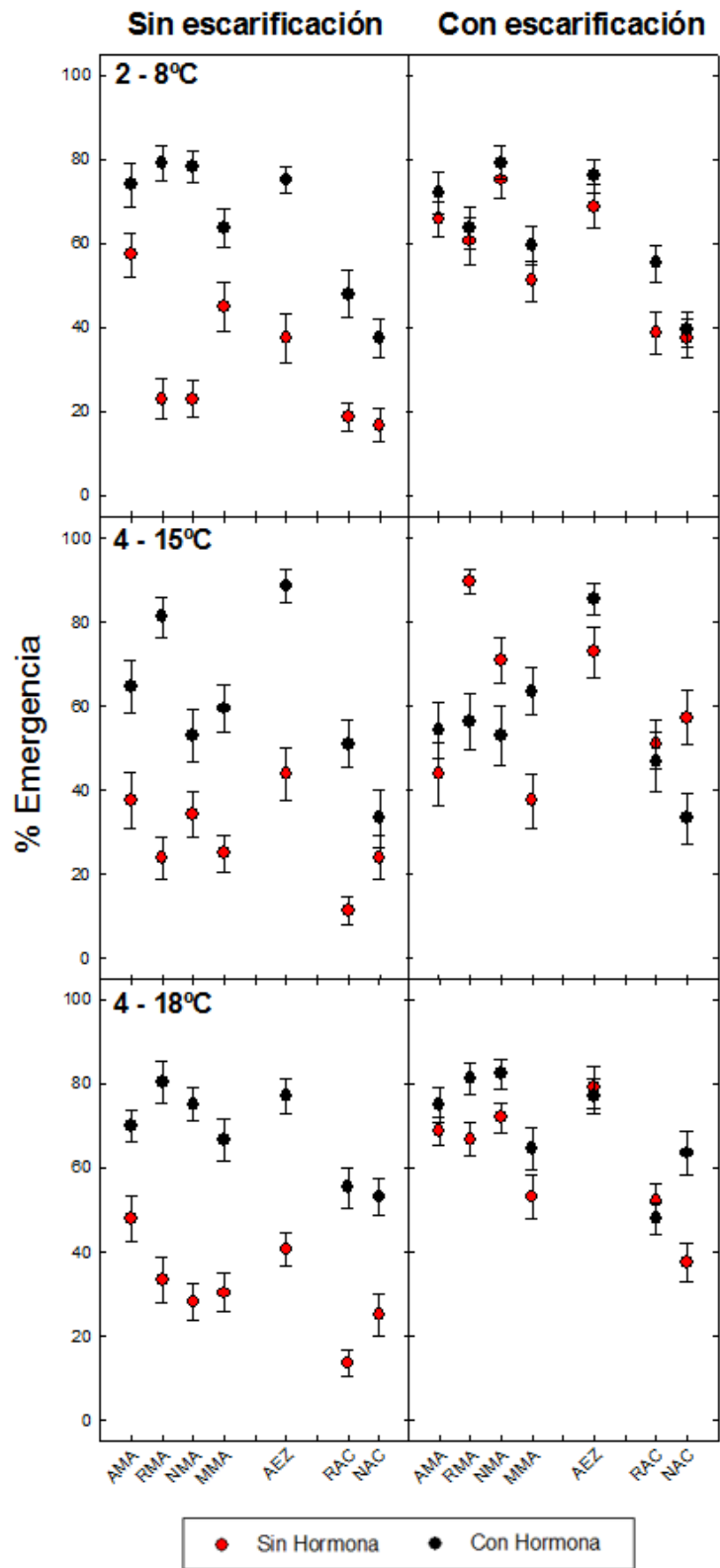


Figura 7: Porcentaje de emergencia de plántulas de *L. meyenii* sometidas a la aplicación de dos promotores germinativos en 3 tratamientos térmicos. Se muestran las medias \pm error estándar.

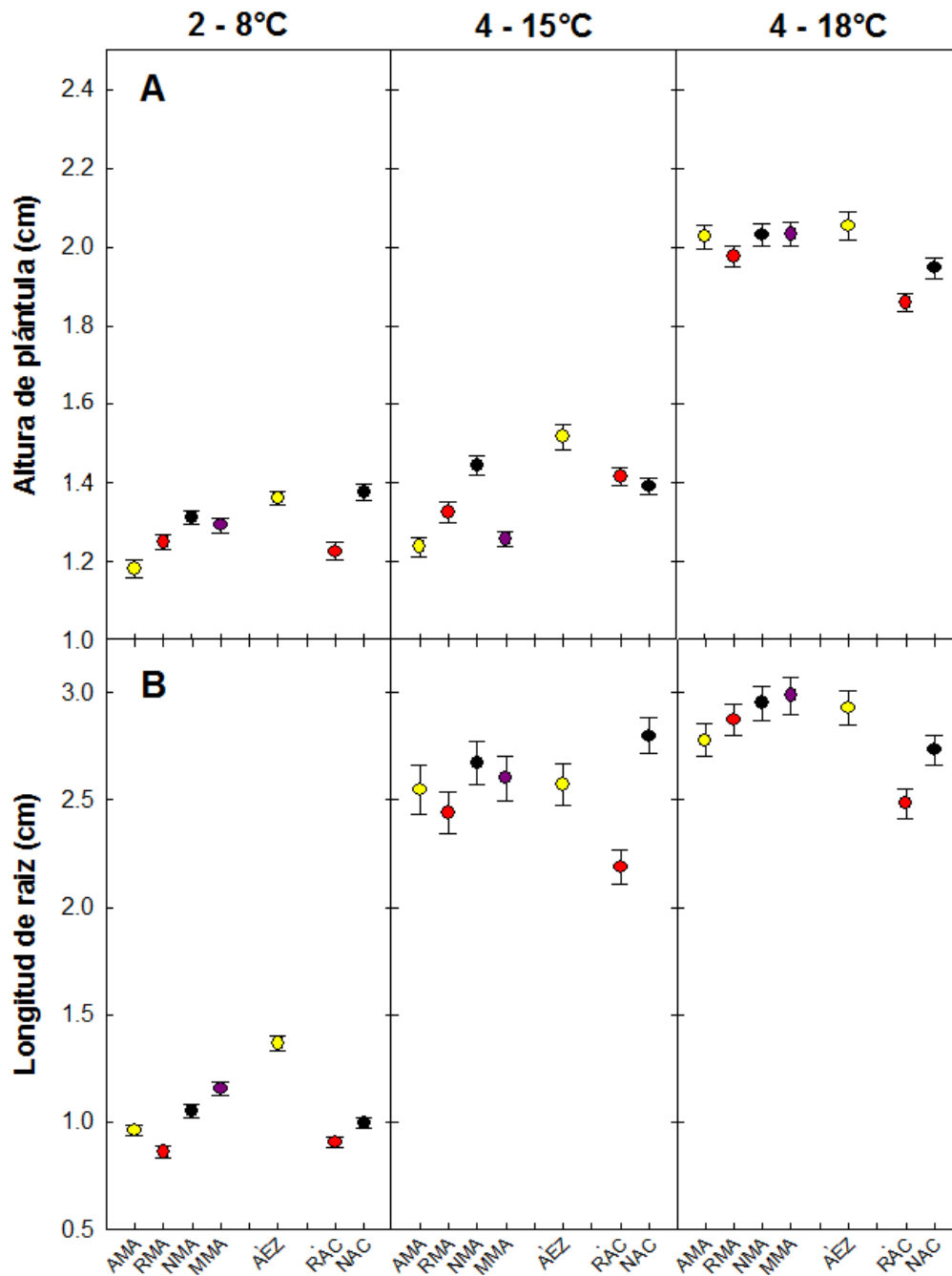


Figura 8: Altura de plántula (A) y longitud de raíz (B) en 7 accesiones de *L. meyenii* sometidas a 3 tratamientos térmicos. Los colores de los símbolos indican el color de hipocótilo de procedencia. Se muestran las medias \pm error estándar.

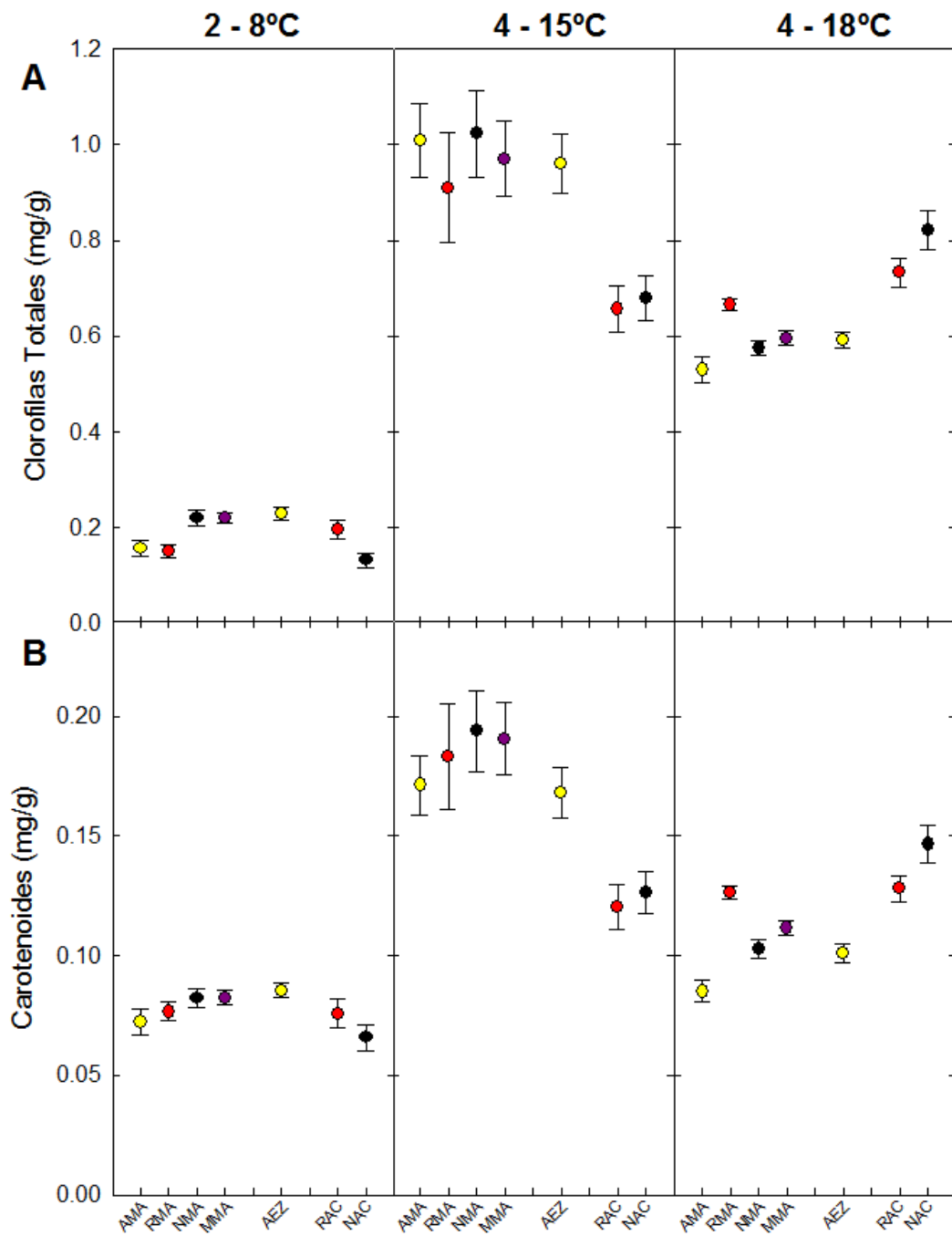


Figura 9: Concentración de clorofilas totales (A) y carotenoides (B) en 7 accesiones de *L. meyenii* sometidas a tres tratamientos térmicos. Los colores de los símbolos indican el color de hipocótilo de procedencia. Se muestran las medias \pm error estándar.

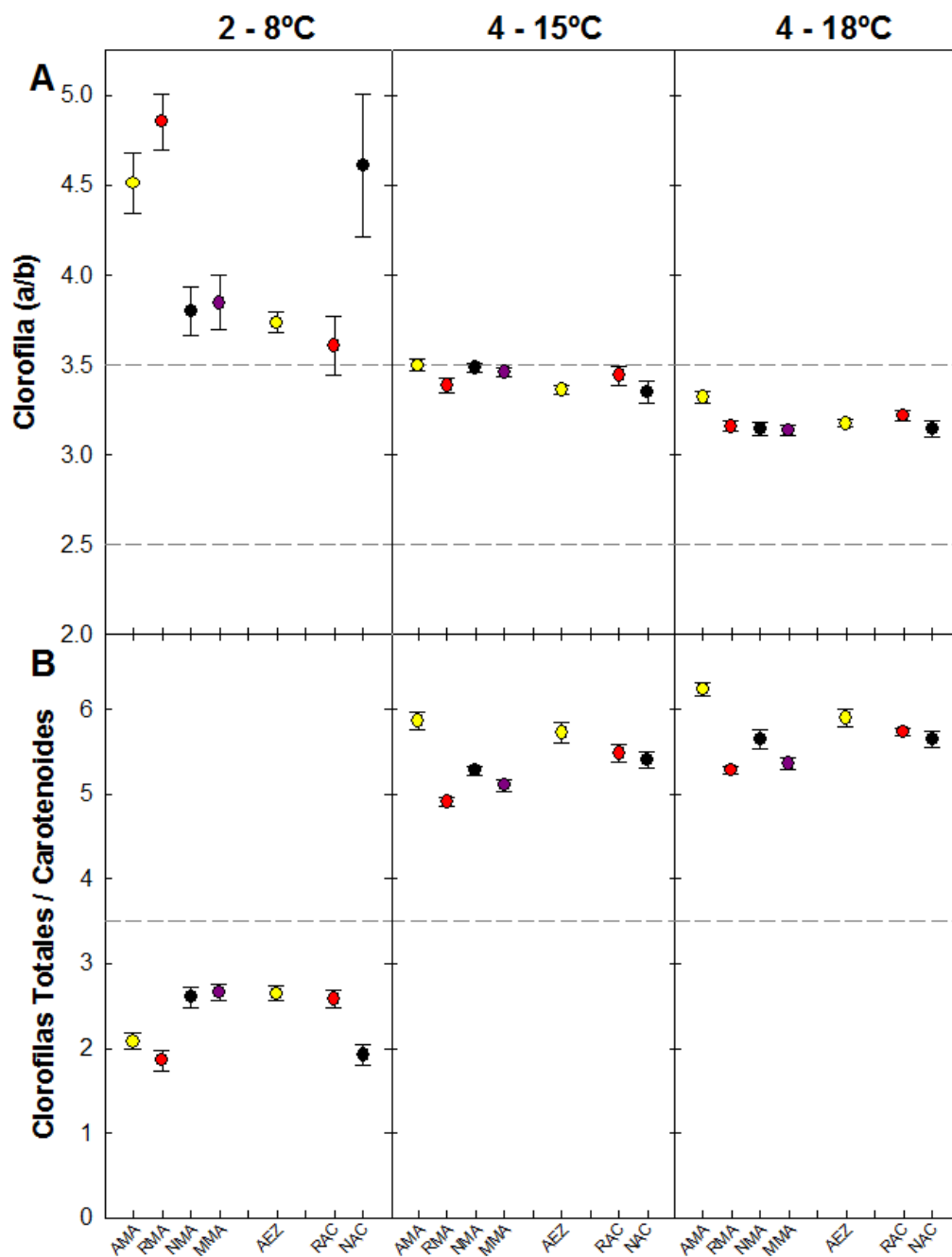


Figura 10: (A) Proporción clorofila A/clorofila B en 7 accesiones de *L. meyenii* sometidas a tres tratamientos térmicos. El rango indicado entre las líneas punteadas (2.5-3.5) indica hojas verdes completamente desarrolladas. Valores mayores a este rango indican proceso de verdor de hojas etioladas o en desarrollo. **(B)** Proporción clorofilas totales/carotenoides en 7 accesiones de *L. meyenii* sometidas a tres tratamientos térmicos. Valores menores a 3.5 (indicado con la línea punteada) son un indicador de estrés, senescencia, daño foliar o daño del fotosistema. En ambos casos, se utilizaron los valores establecidos por Lichtenthaler & Buschmann (2005). Los colores de los símbolos indican el color de hipocótilo de procedencia. Se muestran las medias \pm error estándar.

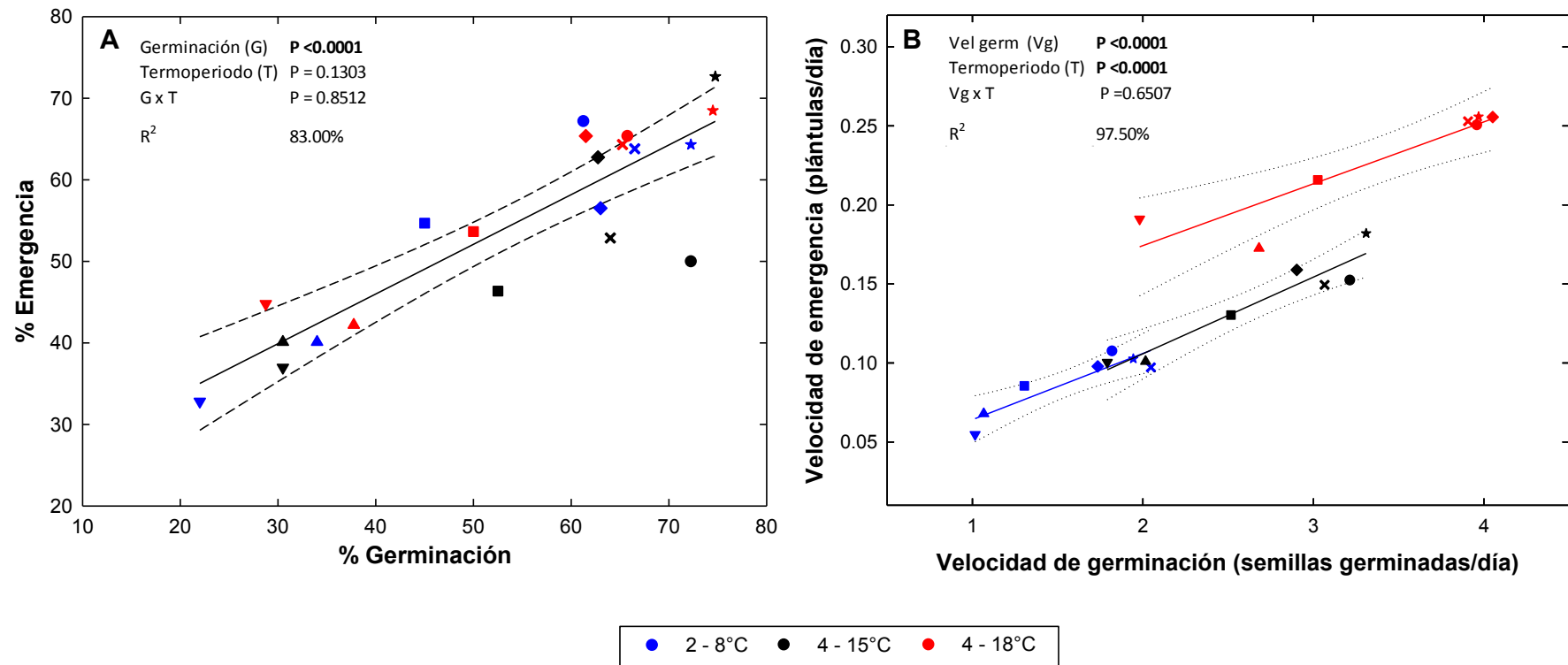


Figura 11: Relación entre los porcentajes (A) y las velocidades (B) de germinación y emergencia. Se muestra la tendencia lineal (línea constante) y los intervalos de confianza al 95% (líneas punteadas). También se muestran los análisis respectivos de los efectos de la germinación y el termoperiodo en la emergencia de plántulas con sus respectivos coeficientes de determinación (R^2). Las formas de las figuras indican las accesiones AMA (●), RMA (◆), NMA (X), MMA (■), AEZ (★), RAC (▲) y NAC (▼) respectivamente.

VI. DISCUSIÓN

La germinación de las semillas y la emergencia de las plántulas son etapas claves que determinan el éxito de la mayoría de especies cultivables en diferentes sistemas agrícolas (Ghaderi-Far et al., 2010; Ghorbani et al., 1999; Rodriguez et al., 2016). Por una parte, germinar en el momento adecuado asegura la supervivencia del individuo ante diferentes tipos de estrés ambiental implicando cualidades intrínsecas de la semilla (Baskin & Baskin, 2014). Por otro lado, la emergencia de plántulas es importante porque determina si un individuo podrá sobrellevar eventos de herbivoría o estrés ambiental, o si podrá ser capaz de competir con otros individuos (Booth et al., 2010).

Diversos estudios en plantas evidencian que la temperatura es el factor central que determina el éxito en etapas tempranas del desarrollo (Morinaga, 1926; Steinbauer & Grigsby, 1957; Thompson & Grime, 1983). Esto debido a que la tasa de germinación se incrementa al inicio de modo positivamente lineal con el incremento de la temperatura, partiendo de una temperatura mínima o basal (T_b), hasta llegar a la temperatura óptima (T_o) (Alvarado & Bradford, 2002; Moot et al., 2000). Nuestros resultados evidenciaron que la tasa de germinación mejora sustancialmente con el incremento de la temperatura, sugiriendo un requerimiento térmico para asegurar el éxito germinativo, al igual que otras especies, como *Dactylis glomerata* (pasto ovillo), *Chenopodium pallidicaule* (cañihua) y *Jatropha curcas* (Qiu et al., 2006; Rodriguez et al., 2016; Windauer et al., 2012). No obstante, estos trabajos también mencionan un rango óptimo de temperatura para alcanzar la máxima tasa de germinación propia de cada especie, por lo que sería interesante evaluarla en futuros trabajos en *L. meyenii*, para mejorar su manejo en campo.

Los resultados evidencian que las primeras fases del desarrollo de *L. meyenii* (germinación de semillas y emergencia de plántulas), están fuertemente asociadas (Fig. 11). Esta relación entre germinación y emergencia también se ha visto en otras especies cultivables y han ayudado a generar mejoras en el manejo de estos cultivos. Hay diversos casos como en *Zea mays* (maíz), *Gossypium hirsutum* (algodón), *Triticum aestivum* (trigo), *Medicago sativa* (alfalfa), *Brassica napus* (canola) y *Lens culinaris* (lenteja), que mostraron una fuerte relación, posiblemente explicada por características intrínsecas, como el vigor de la semilla. Estudios previos encuentran que semillas vigorosas suelen producir plántulas que emergen

mejor y rápido en condiciones de campo, con mayor habilidad para competir con otros individuos. Además, muestran mayor eficiencia en el manejo de los recursos disponibles y tolerarían diferentes tipos de estrés ambiental (Divsalar et al., 2016; Johnson et al., 1987; Makkawi et al., 2008).

Por otro lado, si bien la temperatura favorecería el incremento de la velocidad de los procesos, las accesiones mantuvieron diferencias en su desempeño relativo de manera consistente en todos los tratamientos térmicos (Fig. 2, 6 y 11), sugiriendo diferencias intrínsecas en la calidad de las semillas de acuerdo a su procedencia. Estas diferencias en la calidad de las semillas pueden ser genéticas o ambientales (por ejemplo, prácticas agronómicas durante la producción de semillas, que van desde la obtención de las semillas hasta las condiciones de almacenamiento). Por ejemplo, un trabajo en *Arabidopsis thaliana* encontró que diferentes accesiones o ecotipos de esta especie muestran variación en el peso de la semilla (siendo en algunos casos el doble de peso) atribuido a las diferencias en el número y tamaño de células entre el embrión y la testa (Alonso-Blanco et al., 1999). Por otro lado, algunos trabajos en *Glycine max* (soya) y *Lactuca sativa* (lechuga) muestran que tanto la viabilidad de semillas como el porcentaje de emergencia se retrasan notablemente al estar sometidas a condiciones de almacenamiento diferentes (tiempo de almacenamiento, humedad y temperatura) (Bewley & Bradford, 2013). En ambos casos, el peso podría ser un indicador de calidad, ya que trabajos en *A. thaliana*, *Vicia faba* (haba) y *Pisum sativum* (arveja) muestran que el peso refleja una serie de cambios a nivel de la testa y el endospermo (Bradford & Nonogaki, 2007; Melorose et al., 2015). En nuestro trabajo, encontramos que las accesiones con menor desempeño correspondieron a aquellas con menor peso de la semilla (Fig. 4). Esto podría estar relacionado con un menor contenido en las reservas de alimento y el contenido energético de la semilla, como lo sugieren algunos trabajos realizados en *Pastinaca sativa* y *Androgaphis paniculata* (Hendrix, 1984; Kumari et al., 2012).

A lo largo de todos los tratamientos térmicos, la aplicación de los promotores favoreció ambas etapas, aunque no se encontró sinergismo entre promotores, pues la aplicación de un promotor fue suficiente para conseguir germinaciones significativamente mayores a los controles (Fig. 3 y 7). Este efecto positivo de ambos promotores ha sido estudiado en diferentes especies, tanto cultivables (*Avena fatua*) como silvestres (*Thlaspi arvense* y

Sinapis arvensis) (Hsiao, 1980; Hsiao, 1979b); no obstante estos estudios sí evidenciaron un sinergismo de ambos tratamientos. Sin embargo, otro estudio del mismo autor en semillas de *Polygonum convolvulus* y *Saponaria vaccaria* reportó que la aplicación de ambos tratamientos no fue tan favorable como su aplicación individual (Hsiao, 1979a), dando a entender que el efecto de los promotores varía de acuerdo a la especie. En nuestro caso particular, si bien los promotores germinativos aceleran el proceso, era de esperar que la aplicación de ambos promotores no pudiera alcanzar niveles más elevados debido a la alta capacidad de germinación de estas semillas (en algunos casos los porcentajes de los grupos control superó el 90% al final de los experimentos).

Posterior a la emergencia, las bajas temperaturas retrasaron el desarrollo de las plántulas, y mostraron una asignación de biomasa orientada primero al crecimiento radicular y luego al desarrollo de la parte aérea (Fig. 8). La asignación de biomasa ha sido ampliamente estudiada en muchas especies (800 experimentos en 850 especies diferentes) (Poorter et al., 2011). Estos trabajos mencionan que este proceso se da con la finalidad de promover la captura del factor más limitante para el crecimiento. Por ejemplo, si el factor limitante estuviera en el suelo (nutrientes o agua) se asignaría mayor biomasa a las raíces y, por el contrario, si el factor limitante estuviera por encima del suelo (luz, CO₂), se asignaría mayor biomasa a las hojas. Se sabe que las bajas temperaturas disminuyen las tasas de captación de agua, ya que afecta la extensión de la raíz (al generar células de menor tamaño en la zona de elongación de la raíz, se reduce la extensibilidad de las paredes celulares y, por tanto, la capacidad de elongación de la raíz se reduce), genera una disminución la permeabilidad de las membranas celulares (debido a una menor proporción de fosfolípidos insaturados, la membrana se vuelve más rígida) y disminuye la captación de agua (se cree que, además de aumentar la viscosidad del agua, las bajas temperaturas ejercerían un efecto en el funcionamiento de las acuaporinas) (Lambers et al., 2008), por lo que se esperaría una mayor cantidad de biomasa en la parte radicular para compensar el déficit hídrico. Por otro lado, este reasignamiento de biomasa también podría explicarse por el hecho que *L. meyenii* es un cultivo que produce un notable órgano de reserva subterráneo, similar a lo encontrado en *Ipomoea batatas*, donde se observa un aumento sustancial en la biomasa de la parte radicular que va acorde al incremento de la temperatura (17.4°C: 8.82 g; 26.3°C: 70.36 g) (Abukari et al., 2015). Se ha reportado que las especies que presentan mayor proporción de biomasa en estructuras

subterráneas, son aquellas que producen raíces y/o tubérculos aprovechables (Petr et al., 1988), como *Solanum tuberosum* (papa), *Ipomoea batatas* (camote), *Beta vulgaris* (remolacha) y *Helianthus tuberosus* (pataca). Estas especies muestran en etapas tempranas un aseguramiento de la parte radicular, asignando una cantidad importante de biomasa como reserva para formar estas estructuras en etapas posteriores (Booth et al., 2010; Osaki et al., 2012).

En el mismo sentido del efecto sobre la morfología de las plántulas, las bajas temperaturas limitaron el funcionamiento de la maquinaria fotosintética (Fig. 9 y 10). Este efecto puede corroborarse tanto por las bajas concentraciones de pigmentos fotosintetizadores en el tratamiento más frío, como por los valores de las proporciones entre pigmentos (tanto entre clorofilas (a/b) y entre clorofilas y carotenoides). Estudios previos en *Melilotus officinalis* y *Zea mays* han documentado que las bajas temperaturas inducen cambios en la composición de pigmentos (Beck & Redman, 1940; Haldimann, 1998). Particularmente, un trabajo en *Triticum ferrugineum*, una línea pura de trigo, menciona que la síntesis adicional de protoclorofilida depende directamente de la temperatura (Lubimenko, 1932). Otro trabajo en *Triticum aestivum* evidencia que la edad de las hojas en desarrollo tiene un considerable efecto en la producción de clorofilas, mostrando una disminución en la proporción de clorofilas (a/b) conforme las hojas van madurando (Boffey et al., 1980). Dado que una disminución en la temperatura genera retrasos en el desarrollo de plántulas, se esperaría encontrar valores de la proporción de clorofilas (a/b) más elevados a bajas temperaturas, como lo evidencian nuestros resultados (Fig. 10). De la misma manera, la proporción entre clorofilas y carotenoides fue menor a bajas temperaturas. Esto podría estar asociado a eventos de estrés debido a una mayor degradación de clorofilas que carotenoides mediante la vía PAO (pheophorbid A oxigenase), una enzima clave en la degradación de clorofilas (Lichtenthaler & Buschmann, 2005; Biswel, 2013).

Por otro lado, las accesiones no mostraron diferencias consistentes a lo largo de los tratamientos térmicos, y los promotores tuvieron una influencia reducida sobre la morfología de las plántulas, sugiriendo que el efecto de estos factores fue importante solo en las primeras etapas (hasta la emergencia), pero reducida durante el crecimiento de las plántulas. Cabe destacar que en el tratamiento de más baja temperatura, en el que se evidencia el mayor estrés, sí hay una diferencia en el comportamiento de las accesiones, AMA, RMA y NAC.

Si bien nosotros trabajamos con accesiones de semillas, se ha evidenciado en otros trabajos con *A. thaliana* y *Betula pendula* variaciones en el desempeño de plántulas de ecotipos distintos sometidos a un estrés térmico (Hasdai et al., 2006; Li et al., 2005). Sin embargo, se requiere de estudios adicionales para evaluar si las características propias del material son las que generan estas diferencias.

Todos nuestros resultados apuntan a que la temperatura juega un papel clave en el establecimiento de plántulas de *L. meyenii*, pues se evidencia que su descenso genera retrasos en las primeras etapas del desarrollo (germinación, emergencia y establecimiento), lo que podría ser una de las principales causas de la alta mortalidad de plántulas observada en el campo. No obstante, existen otros factores que podrían estar interviniendo, como la disponibilidad hídrica, por lo que sería de gran utilidad evaluar sus efectos en este cultivo. Siendo el momento de la emergencia algo importante para el agricultor, tener la capacidad de predecir el desempeño de las plántulas les ayudaría a prevenir esta alta mortalidad. Adicionalmente, se evidenciaron diferencias en la calidad de semilla, que posiblemente estén asociados al manejo del productor, ya que el ordenamiento de las accesiones también correspondió a los donadores del material. Si bien se podría sugerir mejoras en el manejo del material, la aplicación de ambos promotores germinativos sería una alternativa más eficaz que otros métodos (por ejemplo, algunos productores mantienen sus semillas en buen estado al utilizar sacos de yute cubiertos de paja) al comprobarse sus efectos positivos en diferentes rangos de temperatura establecidos.

VII. CONCLUSIONES

1. Se evidenció una fuerte asociación entre los eventos de germinación de semillas (porcentaje y velocidad) y emergencia de plántulas (porcentaje y velocidad).
2. La temperatura mostró un efecto importante en el desempeño germinativo de *L. meyenii*, pues se encontró que su descenso generó retrasos en la germinación de semillas y emergencia de plántulas, además de retrasar su posterior desarrollo.
3. Las accesiones mantuvieron diferencias en su desempeño relativo de manera consistente en todos los tratamientos térmicos, siendo las accesiones RAC y NAC las que mantuvieron un bajo desempeño, mientras que la accesión AEZ mostro el mejor desempeño. Esto sugiere diferencias relativas a la calidad de las semillas de acuerdo a su procedencia.
4. A lo largo de todos los tratamientos térmicos, la aplicación de los promotores de germinación (ácido giberélico e hipoclorito de sodio) favorecieron ambas etapas (germinación y emergencia), perdiendo su efecto en etapas posteriores (post-emergencia). No se encontró sinergismo entre ambos promotores.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdul-Baki, A. A., & Anderson, J. D. (1973). Vigor Determination in Soybean Seed by Multiple Criteria. *Crop Science*, 13, 630–633.h

Abukari, I. A., Shankle, M. W., & Reddy, K. R. (2015). Sweetpotato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.]. Response to S-Metolachlor and Rainfall under Three Temperature Regimes. *American Journal of Plant Sciences*, 6(05), 702.

Adkins, S. W., Ashmore, S., & Navie, S. C. (2007). Seeds: Biology, Development and Ecology. CABI. Trowbridge, UK. Chaps. 19-20, 35-36.

Alonso-Blanco, C., Blankestijn-de Vries, H., Hanhart, C. J., & Koornneef, M. (1999). Natural allelic variation at seed size loci in relation to other life history traits of *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(8), 4710–4717.

Alvarado, V., & Bradford, K. J. (2002). A hydrothermal time model explains the cardinal temperatures for seed germination. *Plant, Cell and Environment*, 25(8), 1061–1069.

Anjum, T., & Bajwa, R. (2005). Importance of germination indices in interpretation of allelochemical effects. *International Journal of Agriculture and Biology*, 7(1), 417–419.

Arbizu, C., Calderon, A., Castillo, R., Cruz, P., Estrada, R., Hermann, M, Jayasinghe, U. (1991). Avances de los trabajos colaborativos del Centro Internacional de la Papa (CIP) en raíces y tuberosas andinas. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima – Perú. p. 8-17.

Argerich, C. A., & Bradford, K. J. (1989). The effects of priming and ageing on seed vigour in tomato. *Journal of Experimental Botany*, 40(5), 599–607.

Baied, C. a, & Wheeler, J. C. (1993). Ecosystems: Puna Andean of High Evolution the Last Change Over 12, 000 Years Climate, Environment, Central Andes. *Mountain Research and Development*, 13(2), 145–156.

Baskin, C. C., & Baskin, J. M. (2014). *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Second Edition. Elsevier Inc. USA. Chaps. 1-2, 8.

Beck, W. a., & Redman, R. (1940). Seasonal Variations in the Production of Plant Pigments. *Plant Physiology*, 15(1), 81–94.

Bewley, J. D., & Bradford, K. J. (2013). *Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy*. Springer. London, UK. Chaps. 4, 7-8.

Boffey, S. A., Sellden, G., & Leech, R. M. (1980). Influence of Cell Age on Chlorophyll Formation in Light-grown and Etiolated Wheat Seedlings. *Plant Physiology*, 65, 680–684.

Booth, B., D. Murphy, S., & J. Swanton, C. (2010). Invasive plant ecology in natural and agricultural systems. CABI. Oxfordshire, UK. p. 71-96.

Bradford, K. J., & Nonogaki, H. (2007). Seed development, dormancy and germination. Blackwell publishing Ltd. Oxford, UK. p. 10-17

Divsalar, M., Oskouei, B., & Sheidaei, S. (2016). Study on Correlation of Seed Germination Percent of Two Sweet Corn Hybrids with Field Emergence and Some Measured Traits related to yield. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, 6(3), 44–50.

Edwards, M. M. (1968). Dormancy in seeds of charlock: I. Developmental anatomy of the seed. *Journal of Experimental Botany*, 19(3), 575–582.

Finch-Savage, W. E., & Leubner-Metzger, G. (2006). Seed dormancy and the control of germination. *The New Phytologist*, 171(3), 501–23.

Forcella, F., Benech Arnold, R. L., Sanchez, R., & Ghera, C. M. (2000). Modeling seedling emergence. *Field Crops Research*, 67(2), 123–139.

Ghaderi-Far, F., Gherekhloo, J., & Alimagham, M. (2010). Influence of Environmental Factors on Seed Germination and Seedling Emergence of Yellow Sweet Clover (*Melilotus officinalis*). *Planta Daninha*, 28(3), 463–469.

Ghorbani, R., Seel, W., & Leifert, C. (1999). Effects of environmental factors on germination and emergence of *Amaranthus retroflexus*. *Weed Science*, 47(5), 505–510.

Gonzales, C., Cárdenas-Valencia, I., Leiva-Revilla, J., Anza-Ramirez, C., Rubio, J., & Gonzales, G. F. (2010). Effects of different varieties of Maca (*Lepidium meyenii*) on bone structure in ovariectomized rats. *Forschende Komplementarmedizin*, 17(3), 137–143.

Gonzales, G. F., Miranda, S., Nieto, J., Fernández, G., Yucra, S., Rubio, J., Gasco, M. (2005). Red maca (*Lepidium meyenii*) reduced prostate size in rats. *Reproductive Biology and Endocrinology: RB&E*, 3(1), 5.

Gonzalez, G. F., Córdova, A., Vega, K., Chung, A., Villena, A., & Góñez, C. (2003). Effect of *Lepidium meyenii* (Maca), a root with aphrodisiac and fertility-enhancing properties, on serum reproductive hormone levels in adult healthy men. *Journal of Endocrinology*, 176(1), 163–168.

Haldimann, P. (1998). Low growth temperature-induced changes to pigment composition and photosynthesis in *Zea mays* genotypes differing in chilling sensitivity. *Plant, Cell and Environment*, 21(2), 200–208.

Harper, J. L., Lovell, P. H., & Moore, K. G. (1970). The Shapes and Sizes of Seeds. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1(1970), 327–356.

Hasdai, M., Weiss, B., Levi, A., Samach, A., & Porat, R. (2006). Differential responses of *Arabidopsis* ecotypes to cold, chilling and freezing temperatures. *Annals of Applied Biology*, 148(2), 113–120.

Hendrix, S. D. (1984). Variation in Seed Weight and Its Effects on Germination in *Pastinaca sativa* L (Umbelliferae). *American Journal of Botany*, 71(6), 795–802.

Hermann, M., & Bernet, T. (2009). The transition of maca from neglect to market prominence: Lessons for improving use strategies and market chains of minor crops. *Agricultural Biodiversity and Livelihoods. Discussion Papers 1*. Biodiversity International, Rome, Italy. p. 12-15.

Hermann, M., & Heller, J. (1997). Andean roots and tubers: ahipa, arracacha, maca and yacon. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 21. Institute

of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/ International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. p. 173-198.

Hilhorst, H. W. M. (1995). A critical update on seed dormancy. I. Primary dormancy. *Seed Science Research*, 5(2), 61–73.

Hsiao, A. (1980). The effect of Sodium Hypochlorite, Gibberellic Acid and Light on Seed Dormancy and Germination of Stinkweed and Wild Mustard. *Journal of Plant Sciences*, 649, 643–649.

Hsiao, A. I. (1979a). The effect of sodium hypochlorite, gibberellic acid and light on seed dormancy and germination of wild buckwheat (*Polygonum convolvulus*) and cow cockle (*Saponaria vaccaria*). *Agriculture Canada*, (8), 0–4.

Hsiao, A. I. (1979b). The effect of sodium hypochlorite and gibberellic acid on seed dormancy and germination of wild oats (*Avena fatua*). *Agriculture Canada*, 57, 1729–1734.

Illies, J. (1980). *Ecology of highlands*. Kluwer Boston Inc. Massachusetts, USA. Chaps. 1-2, 10.

Johnson, S., Keeley, M., Kerby, T. A., Keeley, M., & Johnson, S. (1987). Predicting cotton seedling emergence. *California Agriculture*, (March-April), 24–26.

Khan, A. A. (1968). Inhibition of Gibberellic Acid-induced Germination by Abscisic Acid and Reversal by Cytokinins¹2. *Plant Physiology*, 43, 1463–1465.

Kumari, A., Lal, R. K., Lal, K., & Singh, B. (2012). Comparative study of seed germination and seed vigour test in *Andrographis paniculata* (Acanthaceae). *Botanica Serbica*, 36(1), 49–52.

Lambers, H., Chapin, F. S., & Pons, T. L. (2008). *Plant Physiological Ecology*. Springer Science & Business Media. New York, USA. p. 239-243.

Leishman, M. (2000). *Dispersal and establishment Seeds: The ecology of regeneration in plant communities*. CAB International, Oxon, UK. Chaps. 2, 10-11.

- Li, C., Welling, A., Puhakainen, T., Vihera-Aarnio, A., Ernstsén, A., Junttila, O., Palva, E. T. (2005). Differential responses of silver birch (*Betula pendula*) ecotypes to short-day photoperiod and low temperature. *Tree Physiology*, 25(12), 1563–1569.
- Lichtenthaler, H. K., & Buschmann, C. (2001). Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. F4.3.1-F4.3.8. John Wiley & Sons, Inc.
- Light, M. E., Burger, B. V., & Van Staden, J. (2005). Formation of a seed germination promoter from carbohydrates and amino acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(15), 5936-5942.
- Lubimenko, V. N. (1932). The influence of temperature on the rate of accumulation of chlorophyll in etiolated seedlings. *New Phytologist*, 31(1), 26–57.
- Makkawi, M., El Balla, M., Bishaw, Z., & van Gastel, A. J. G. (2008). Correlation and Path Coefficient Analyses of Laboratory Tests as Predictors of Field Emergence in Lentil (*Lens culinaris Medikus*). *Journal of New Seeds*, 9(4), 284-302.
- Marin-Bravo, M. (2003). Histología de la Maca, *Lepidium meyenii* Walpers (Brassicaceae). *Revista Peruana de Biología*, 10(1), 101–108.
- McLaren, K. P., & McDonald, M. A. (2003). The effects of moisture and shade on seed germination and seedling survival in a tropical dry forest in Jamaica. *Forest Ecology and Management*, 183(1–3), 61–75.
- Melrose, J., Perroy, R., & Careas, S. (2015). *The Ecology of Seeds*. Cambridge University Press, Cambridge, UK. Chaps. 1, 6, 8.
- Moot, D. J., Scott, W. R., Roy, M., & Nicholls, (2000). Base temperature and thermal time requirements for germination and emergence of temperate pasture species. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 43(1), 15–25.
- Morinaga, T. (1926). Effect of Alternating Temperatures upon the Germination of Seeds. *American Journal of Botany*, 13(2), 141–158.

Müller, K., Tintelnot, S., & Leubner-Metzger, G. (2006). Endosperm-limited Brassicaceae seed germination: Abscisic acid inhibits embryo-induced endosperm weakening of *Lepidium sativum* (cress) and endosperm rupture of cress and *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology*, 47(7), 864–877.

Navarro, M. del C., & González, E. M. (2007). Efecto de la Escarificación de Semillas en la Germinación y Crecimiento de *Ferocactus robustus* (Pfeiff.) Britton & Rose (Cactaceae). *Zonas Áridas*, 1(September 2004), 195–205.

Nord, E. C., Gunter, L. E., & Graham, S. A. (1971). Forest and Range Experiment Station and hastens germination of creeping sage. U.S. Department of Agriculture Forest Service, Research Note PSW-259.

Ogawa, M., & Hanada, A. (2003). Gibberellin biosynthesis and response during *Arabidopsis* seed germination. *The Plant Cell*. 15(July), 1591–1604.

Osaki, M., Matsumoto, M., Shinano, T., & Tadano, T. (2012). A root-shoot interaction hypothesis for high productivity of root crops A Root-Shoot Interaction Hypothesis for High Productivity of Root Crops. *Soil Science and Plant Nutrition*, 768(August 2014), 37–41.

Petr, J., Cerny, V., & Hruska, L. (1988). Yield formation in the main field crops. *Developments in Crop Science* (Vol. 13). Elsevier Science Publishing Company Inc., New York.

Poorter, H., Niklas, K. J., Reich, P. B., Oleksyn, J., Poot, P., & Mommer, L. (2011). Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analysis of interspecific variation and environmental control. *New Phytologist*, 193(1), 30–50.

Qiu, J., Bai, Y., Coulman, B., & Romo, J. T. (2006). Using thermal time models to predict seedling emergence of orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) under alternating temperature regimes. *Seed Science Research*, 16(4), 261–271.

Quirós, C. F., & Cárdenas, R. (2002). Maca (*Lepidium meyenii* Walp.). In *Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops* (pp. 174–196).

Ranal, M. a., & Santana, D. G. De. (2006). How and why to measure the germination process? *Revista Brasileira de Botânica*, 29(1), 1–11.

Rodríguez, J. P., Jacobsen, S.-E., Sørensen, M., & Andreasen, C. (2016). Germination Responses of Cañahua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) to Temperature and Sowing Depth: A Crop Growing under Extreme Conditions. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 202(6), 542-553.

Sawma, J. T., & Mohler, C. L. (2002). Evaluating seed viability by an unimbibed seed crush test in comparison with the tetrazolium test. *Weed Technology*, 16(4), 781–786.

Steinbauer, G. P., & Grigsby, B. (1957). Interaction of Temperature, Light, and Moistening Agent in the Germination of Weed Seeds. *Weed Science Society of America Interaction*, 5(3), 175–182.

Thompson, K., & Grime, J. P. (1983). A Comparative Study of Germination Responses to Diurnally-Fluctuating Temperatures. *Journal of Applied Ecology*, 20(1), 141.

Timko, J., & Satterfield, T. (2008). Criteria and indicators for evaluating social equity and ecological integrity in national parks and protected areas. *Natural Areas Journal*, 28(3), 307-319.

Tripathi, R. S., & Khan, M. L. (1990). Effects of Seed Weight and Microsite Characteristics on Germination and Seedling Fitness in Two Species of *Quercus* in a Subtropical Wet Hill Forest. *Oikos*, 57(3), 289.

Van Loon, C. D. (1987). Effect of physiological age on growth vigour of seed potatoes of two cultivars. 4. Influence of storage period and storage temperature on growth and yield in the field. *Potato Research*, 30(3), 441–450.

Vaugh, H. B. K. M. (2009). Factsheet: Datos botánicos de Maca. Proyecto Perú Biodiverso (PBD), Lima, Perú.

Windauer, L. B., Martinez, J., Rapoport, D., Wassner, D., & Benech-Arnold, R. (2012). Germination responses to temperature and water potential in *Jatropha curcas* seeds: A

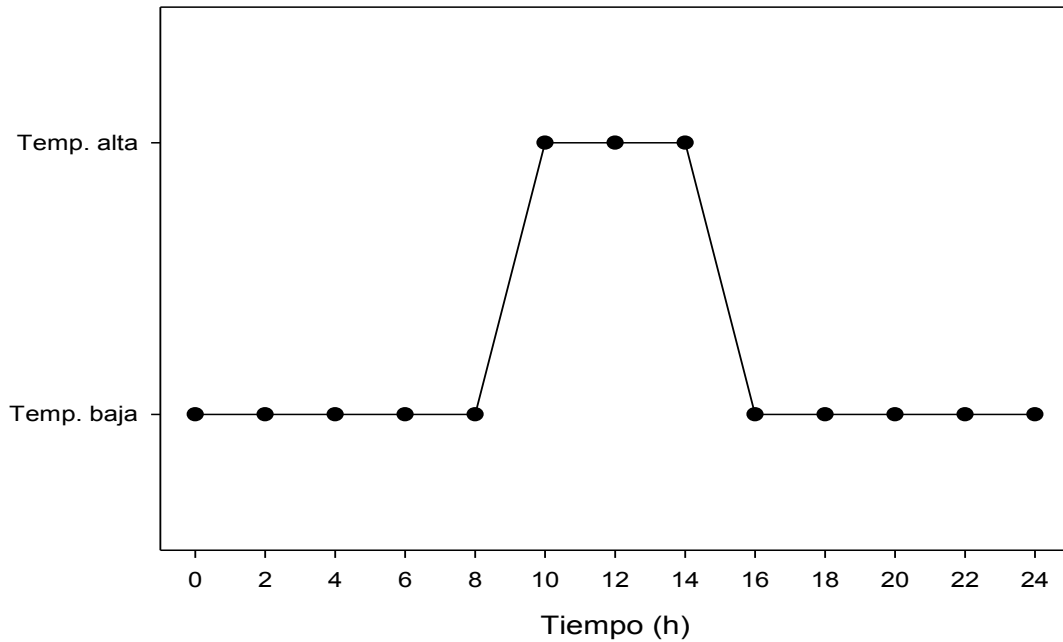
hydrotime model explains the difference between dormancy expression and dormancy induction at different incubation temperatures. *Annals of Botany*, 109(1), 265–273.

Yamauchi, Y., Ogawa, M., Kuwahara, A., Hanada, A., Kamiya, Y., & Yamaguchi, S. (2004). Activation of gibberellin biosynthesis and response pathways by low temperature during imbibition of *Arabidopsis thaliana* seeds. *The Plant Cell*, 16(2), 367–378.

Yucra, S., Gasco, M., Rubio, J., Nieto, J., & Gonzales, G. F. (2008). Effect of different fractions from hydroalcoholic extract of Black Maca (*Lepidium meyenii*) on testicular function in adult male rats. *Fertility and Sterility*, 89(5 SUPPL.), 1461–1467.

Zhou, J., Deckard, E. L., & Ahrens, W. H. (2015). Factors affecting germination of hairy nightshade (*Solanum sarrachoides*) seeds. *Weed Science*. 53(1), 41–45.

IX. ANEXOS



Esquema 1: Esquema del ciclo de temperaturas alternas con la que se realizaron los ensayos de germinación y emergencia (Modelo KBW 400, Marca BINDER)

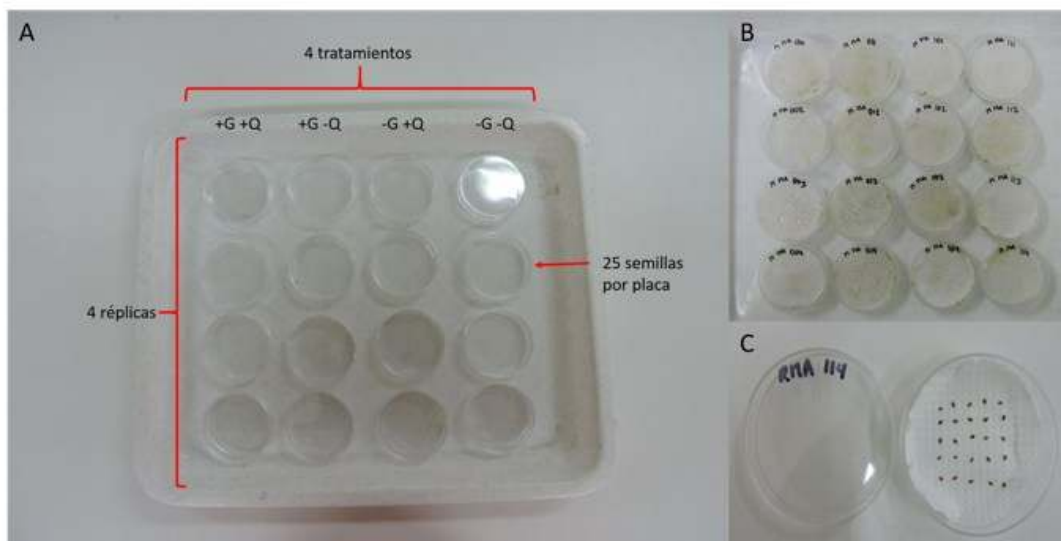


Imagen 1: Ensayos con placas. Se muestra la distribución de las placas en cada bandeja (1A), donde se realizaron 4 réplicas por tratamiento (1B) en el que se sembraron 25 semillas por placa (1C). Tratamientos: hormonal (H) y químico (Q)



Imagen 2: Ensayos con bandejas. Los 28 tratamientos se sembraron en bandejas germinadoras siguiendo el siguiente orden: se establecieron 56 filas de 8 pocillos, donde cada tratamiento se sembró en dos filas de manera aleatoria. En cada pocillo se sembraron 3 semillas correspondientes al tratamiento establecido.



Imagen 3: Criterio para la determinación de plántula emergida. Se muestra un pocillo sin plántulas emergidas (círculo blanco), plántulas no consideradas para el conteo (ausencia de cotiledones, círculo amarillo) y plántulas consideradas para el conteo (presencia de los cotiledones, círculo rojo).

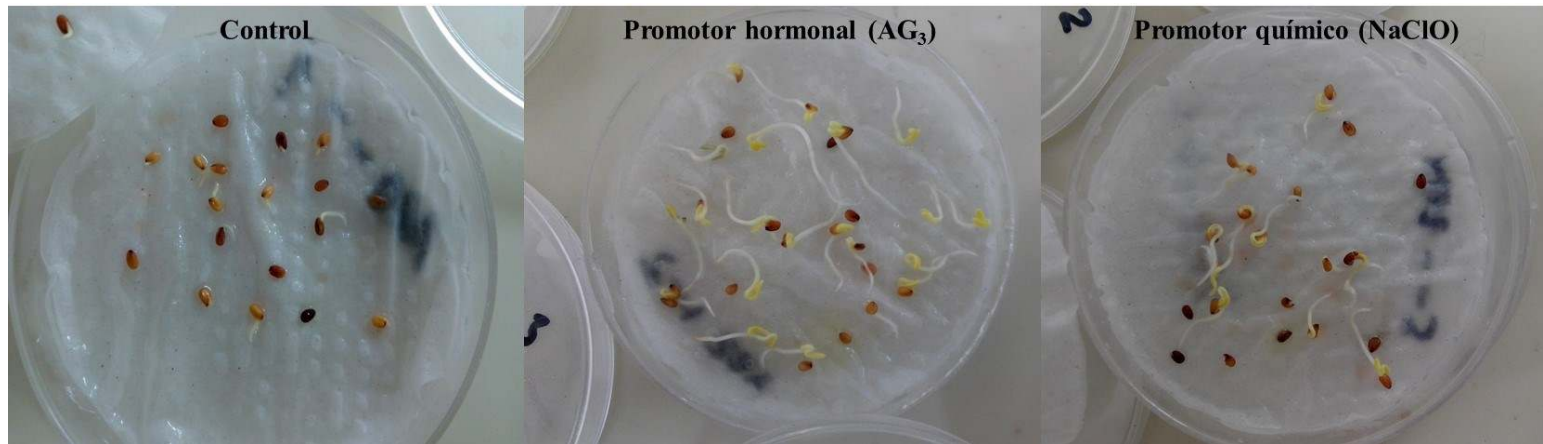


Imagen 4: Efecto de la aplicación de promotores germinativos en la germinación de semillas de *L. meyenii*. Las imágenes mostradas corresponden al conteo final (día 20) de semillas germinadas a un rango de temperatura de 4 – 15°C.

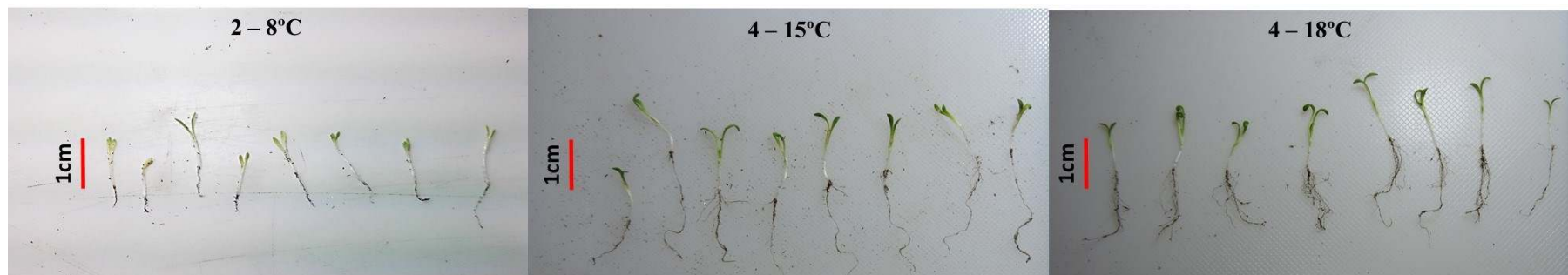


Imagen 5: Efecto de los tratamientos térmicos en la morfología de plántulas de *L. meyenii*. Las plántulas mostradas fueron obtenidas al final de cada experimento (día 30).