

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN ANIMAL**



**“MOMENTO DE COSECHA Y CAPACIDAD DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE TRES GRAMÍNEAS ALTOANDINAS (*Festuca dolichophylla*, *Festuca humilior* y *Calamagrostis vicunarium*)”**

**Presentada por:**

**JIMY KIDT CASTRO DE LA CRUZ**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO  
MAGISTER SCIENTIAE EN PRODUCCIÓN ANIMAL**

**Lima – Perú**

**2019**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN ANIMAL**

**“MOMENTO DE COSECHA Y CAPACIDAD DE  
GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE TRES GRAMÍNEAS  
ALTOANDINAS (*Festuca dolichophylla*, *Festuca humilior* y  
*Calamagrostis vicunarium*)”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE  
MAGISTER SCIENTIAE**

**Presentada por:**

**JIMY KIDT CASTRO DE LA CRUZ**

**Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:**

Dr. Javier Arias Carbajal  
**PRESIDENTE**

Ph.D. Lucrecia Aguirre Terrazas  
**PATROCINADOR**

Ph.D. Enrique Ricardo Flores Mariazza  
**MIEMBRO**

Mg.Sc. Cecilia Figueroa Serrudo  
**MIEMBRO**

## **DEDICATORIA**

A Dios,

A mis padres, María y Macario.

A mis hermanos y hermanas.

A mi familia.

## **AGRADECIMIENTO**

A mi estimada asesora y patrocinadora de tesis, la Ph.D. Lucrecia Aguirre Terrazas, por su apoyo, guía, paciencia, enseñanza y consejos en lo académico y profesional.

Al laboratorio de Ecología y Utilización de Pastizales de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria La Molina por brindarme la dicha de ser parte del grupo.

Al Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica por financiar mis estudios y la presente investigación.

A mis amigos del Laboratorio de Utilización de Pastizales de quienes aprendí mucho y compartimos experiencias de buen trabajo en equipo.

A mis profesores consejeros y miembros del jurado de la presente tesis, Enrique Flores Mariazza, Cecilia Figueroa Serrudo y Javier Arias Carbajal por compartir sus conocimientos y aportes en la realización del presente trabajo.

A todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron con la ejecución del presente estudio.

# ÍNDICE GENERAL

	Pág.
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	<b>3</b>
2.1 Rehabilitación de pastizales.....	3
2.1.1 Revegetación .....	5
2.1.2 Uso de semilla botánica en la recuperación de pastizales .....	6
2.2 Ecología de semillas .....	7
2.3 Formación y estructura de semillas .....	10
2.4 Maduración y momento de cosecha.....	12
2.4.1 Maduración de semillas .....	12
2.4.2 Indicadores del momento de cosecha .....	13
2.5 Características físicas de las semillas .....	16
2.5.1 Pureza .....	16
2.5.2 Peso.....	17
2.5.3 Tamaño .....	18
2.6 Características fisiológicas de las semillas .....	19
2.6.1 Germinación .....	19
a. Factores que influyen en la germinación.....	20
2.6.2 Viabilidad .....	21
a. Ensayo topográfico con tetrazolio .....	22
b. Tipo de corte.....	23
<b>III. MATERIALES Y METODOS</b> .....	<b>24</b>
3.1 Lugar de estudio.....	24
3.2 Metodología y monitoreo de unidades experimentales .....	25
3.3 Muestra de trabajo .....	26
3.4 Momento óptimo de cosecha .....	27
3.4.1 Características físicas de las semillas .....	27
a. Pureza .....	27
b. Peso de semillas.....	27
c. Tamaño de semillas .....	28
3.4.2 Características fisiológicas de las semillas.....	28
a. Germinación .....	28
b. Viabilidad .....	32

3.5	Diseño y análisis estadístico .....	34
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>35</b>
4.1	Momento óptimo de cosecha .....	35
4.1.1	Características físicas de las semillas .....	35
a.	Pureza .....	35
b.	Peso de 100 semillas .....	41
c.	Tamaño de semillas .....	43
4.1.2	Características fisiológicas de las semillas .....	45
a.	Germinación .....	45
b.	Viabilidad .....	50
<b>V.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>55</b>
<b>VI.</b>	<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>56</b>
<b>VII.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>57</b>
<b>VIII.</b>	<b>ANEXOS .....</b>	<b>65</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 1.</b> Métodos de preparación y tinción. ....	32
<b>Tabla 2:</b> Pureza obtenida de las tres especies evaluadas en los tres momentos de cosecha .....	40
<b>Tabla 3:</b> Número de semillas por gramo de <i>Festuca humilior</i> , <i>Festuca dolichophylla</i> y <i>Calamagrostis vicunarum</i> en tres momentos de cosecha. ....	42
<b>Tabla 4:</b> Germinación obtenida en las tres especies evaluadas en los tres momentos de cosecha .....	49
<b>Tabla 5:</b> Viabilidad obtenida en las tres especies evaluadas en los tres momentos de cosecha .....	53

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1.</b> Reacción de óxido-reducción que origina formazán.....	22
<b>Figura 2.</b> Datos obtenidos durante la evaluación.....	25
<b>Figura 3.</b> Momentos de cosecha de acuerdo con la formación y maduración de semillas.	26
<b>Figura 4.</b> Porcentaje de pureza de <i>Festuca humilior</i> , <i>Festuca dolichophylla</i> y <i>Calamagrostis vicunarum</i> .....	36
<b>Figura 5.</b> <i>Calamagrostis vicunarum</i> componente de semilla pura (izquierda) y materia inerte (derecha).....	36
<b>Figura 6.</b> Porcentaje de pureza en tres momentos de cosecha.....	37
<b>Figura 7.</b> Semilla pura de <i>Calamagrostis vicunarum</i> .....	38
<b>Figura 8.</b> Porcentaje de pureza de <i>Festuca humilior</i> , <i>Festuca dolichophylla</i> y <i>Calamagrostis vicunarum</i> en tres momentos de cosecha.....	39
<b>Figura 9.</b> Peso de 100 semillas de <i>Festuca dolichophylla</i> , <i>Festuca humilior</i> y <i>Calamagrostis vicunarum</i> a través de los tres momentos de cosecha.....	41
<b>Figura 10.</b> <i>Festuca dolichophylla</i> 44.9 cm de altura en promedio.....	43
<b>Figura 11.</b> <i>Calamagrostis vicunarum</i> 22.3 cm de altura en promedio.....	43
<b>Figura 12.</b> <i>Festuca humilior</i> 34.2 cm de altura en promedio.....	43
<b>Figura 13.</b> Tamaño promedio de 50 semillas <i>Festuca dolichophylla</i> , <i>Festuca humilior</i> y <i>Calamagrostis vicunarum</i> a través de los tres momentos de cosecha.....	44
<b>Figura 14.</b> Plántulas de <i>Festuca dolichophylla</i> .....	45
<b>Figura 15.</b> Plántulas de <i>Calamagrostis vicunarum</i> .....	45
<b>Figura 16.</b> Porcentaje de germinación por semana en <i>Festuca dolichophylla</i> .....	46
<b>Figura 17.</b> Porcentaje de germinación por semana en <i>Festuca humilior</i> .....	46
<b>Figura 18.</b> Porcentaje de germinación por semana en <i>Calamagrostis vicunarum</i> .....	47
<b>Figura 19.</b> Porcentaje de germinación obtenida en función de <i>Festuca humilior</i> , <i>Festuca dolichophylla</i> y <i>Calamagrostis vicunarum</i> .....	47
<b>Figura 20.</b> Porcentaje de germinación en los tres momentos de cosecha.....	48
<b>Figura 21.</b> Porcentaje de germinación acumulada de <i>Festuca humilior</i> , <i>Festuca dolichophylla</i> y <i>Calamagrostis vicunarum</i> en tres momentos de cosecha.....	49
<b>Figura 22.</b> Semilla viable de <i>Festuca humilior</i> .....	50
<b>Figura 23.</b> Semilla viable de <i>Festuca dolichophylla</i> .....	50
<b>Figura 24.</b> Semilla viable de <i>Calamagrostis vicunarum</i> .....	50



<b>Figura 25.</b> Porcentaje de viabilidad obtenida en función de Festuca humilior, Festuca dolichophylla y Calamagrostis vicunarum. ....	51
<b>Figura 26.</b> Porcentaje de viabilidad obtenida en función de los momentos de cosecha.....	51
<b>Figura 27.</b> Porcentaje de viabilidad de Festuca humilior, Festuca dolichophylla y Calamagrostis vicunarum en tres momentos de cosecha.....	52
<b>Figura 28.</b> Semilla no viable de Calamagrostis vicunarum.....	54

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
<b>Anexo 1.</b> Análisis de caracterización de suelo de la zona 1 (P3–T1) y zona 2 (P7–T1).....	65
<b>Anexo 2.</b> Ficha descriptiva de relevamiento pajonal P3 Mesapata. (Noviembre 2015).....	66
<b>Anexo 3.</b> Ficha descriptiva de relevamiento pajonal P7 Mesapata. (Noviembre 2015).....	67
<b>Anexo 4.</b> Datos correspondientes al análisis de pureza.....	68
<b>Anexo 5.</b> Peso de 100 semillas.....	85
<b>Anexo 6.</b> Tamaño de semillas (cm).....	85
<b>Anexo 7.</b> Porcentaje de germinación y viabilidad.....	87
<b>Anexo 8.</b> Análisis de variancia y prueba de comparación de medias, variable peso de semillas puras (CAVI: <i>C. vicunarum</i> , FEDO: <i>F. dolichophylla</i> , FEHU: <i>F. humilior</i> ).....	88
<b>Anexo 9.</b> Análisis de variancia y prueba de comparación de medias, variable número de semillas germinadas (CAVI: <i>C. vicunarum</i> , FEDO: <i>F. dolichophylla</i> , FEHU: <i>F. humilior</i> ).....	90
<b>Anexo 10.</b> Análisis de variancia y prueba de comparación de medias, variable número de semillas viables (CAVI: <i>C. vicunarum</i> , FEDO: <i>F. dolichophylla</i> , FEHU: <i>F. humilior</i> ) .....	92
<b>Anexo 11.</b> Archivo fotográfico. ....	94

## RESUMEN

La presente investigación se realizó en la SAIS “Túpac Amaru” (Junín) ubicada a -11.955183 de latitud y -75.707822 de longitud con una altitud promedio de 4164 m.s.n.m. El estudio tuvo como objetivo determinar la época óptima de cosecha de semillas de tres gramíneas nativas claves (*Festuca dolichophylla*, *Festuca humilior* y *Calamagrostis vicunarium*). Se realizaron tres cosechas de semillas, a los 21, 28 y 35 días después de la floración plena. Para cada cosecha se identificaron 30 inflorescencias marcadas por especie. Para determinar la época óptima de cosecha se realizaron evaluaciones de características físicas (pureza, peso de 100 semillas y tamaño de semillas) y fisiológicas (germinación y viabilidad) en el Laboratorio de Ecología y Utilización de Pastizales de la Facultad de Zootecnia – UNALM. Para el análisis de los datos se realizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3x3. Los resultados muestran que las semillas de *Calamagrostis vicunarium* superan en valores de pureza y viabilidad, 43.6% y 60% respectivamente, a *Festuca humilior* (37% y 23.3%) y *Festuca dolichophylla* (23.1% y 48.3%), mientras que esta última muestra los mejores resultados en el peso (0.08gr) y tamaño de semillas (8.4mm). *Festuca humilior* presentó a lo largo de la evaluación el mejor porcentaje de germinación (33.7%). Con respecto a los momentos de cosecha los resultados muestran que en el tercer momento de cosecha se encontró el mayor porcentaje de pureza (38.6%), porcentaje de germinación (28.3%) y viabilidad (49.2%) para las tres especies, por lo cual se concluye que el momento óptimo de cosecha para las tres especies evaluadas fue a los 35 días post floración.

**Palabras clave:** Época óptima, gramínea nativa, inflorescencias y floración plena.

## ABSTRACT

This research was carried out in the SAIS "Túpac Amaru" (Junín) located at -11.955183 of latitude and -75.707822 of longitude with an average altitude of 4164 m.s.n.m. The objective of the study was to determine the optimal harvest time of seeds of three key native grasses (*Festuca dolichophylla*, *Festuca humilior* and *Calamagrostis vicunarum*). Three crops of seeds were carried out, at 21, 28 and 35 days after full flowering. For each harvest 30 inflorescences marked by species were identified. To determine the optimum harvest time, physical characteristics (purity, weight of 100 seeds and seed size) and physiological (germination and viability) were carried out in the Ecology and Grassland Utilization Laboratory of the Animal Science College - UNALM. For the analysis of the data, a completely randomized design with a 3x3 factorial arrangement was used. The results show that *Calamagrostis vicunarum*'s seeds exceed in values of purity and viability, 43.6% and 60% respectively, to *Festuca humilior*'s (37% and 23.3%) and *Festuca dolichophylla*'s (23.1% and 48.3%), while the latter shows the best results in weight (0.08gr) and seed size (8.4mm). *Festuca humilior* showed the best germination percentage (33.7%) throughout the evaluation. Regarding the harvest moments, the results show that in the third harvest moment, the highest percentage of purity (38.6%), percentage of germination (28.3%) and viability (49.2%) were found for the three species, therefore the optimum harvest time for the three species evaluated was 35 days after flowering.

**Key words:** Vegetative seeds, native grass, inflorescences and full flowering.

## I. INTRODUCCIÓN

Una importante proporción del ecosistema pastizal se encuentra en condición pobre (62 por ciento), debido principalmente al sobrepastoreo y la aplicación de malas prácticas de manejo (Flores, 1999), por lo que se han realizado actividades de restauración o rehabilitación de pastizales degradados con la finalidad de mejorar la condición de pastizal (Numata, 1992). Diversas técnicas de recuperación de pastizales pueden ser empleadas para mejorar la condición del pastizal; entre las más utilizadas se encuentra la revegetación, la cual se restringe hasta la fecha al uso de semilla vegetativa (Tácuna *et al.*, 2015, García, 2016). La revegetación a partir de semilla vegetativa es costosa desde el punto de vista económico y ambiental por lo que es necesario contemplar el uso de semilla botánica como una nueva estrategia de revegetación. Sin embargo, existe escasa información referida a la ecología de semillas de gramíneas nativas altoandinas. Se conoce en términos generales que la producción de semillas está relacionada con el número de inflorescencias por planta, número de semillas por cada inflorescencia, el peso de cada espiguilla y el porcentaje de llenado de semillas (Boonman, 1978). En consecuencia, si se desea obtener semillas de calidad en gramíneas nativas, es necesario identificar momentos de cosecha en los cuales las semillas presenten una adecuada madurez y así disminuir la pérdida por semillas inmaduras o semillas vacías (Joaquín *et al.*, 2006), pues se ha reportado que semillas cosechadas de forma temprana son semillas inmaduras de baja calidad mientras que semillas cosechadas de forma tardía ocasionan pérdidas por dehiscencia (Filgueiras, 1981).

Investigaciones en especies cultivadas como *Brachiaria decumbens* cv *Basilisk* y *Brachiaria brizantha* cv. CIAT-16448 muestran el momento óptimo de cosecha entre los 21 y 28 días posteriores al inicio de floración (Gonzales, 2001). Ruiz *et al.*, (2003) concluye que para obtener semillas de *Bromus auleticus* Trin. con adecuada madurez fisiológica es necesario cosechar entre los 24 y 30 días luego de la antesis periodo donde se obtiene el mayor peso seco, máximo vigor y viabilidad, conclusión que concuerda con (Horton *et al.*, 1990) que menciona que se necesitan 30 días aproximadamente para obtener semillas maduras y esto depende de la especie de gramínea, el clima y del método de cosecha.

Por lo expuesto, es evidente la importancia de identificar el momento óptimo de cosecha de semillas nativas y las características que estas deben de poseer para poder ser utilizadas en programas de recuperación y mejoramiento de pastizales. Por lo que en el presente estudio se planteó el siguiente objetivo general:

Determinar el momento óptimo de cosecha de *Festuca dolichophylla*, *Festuca humilior* y *Calamagrostis vicunarum* para obtener semillas de calidad.

Caracterizar el desarrollo (pureza, peso y tamaño) de las semillas de *Festuca dolichophylla*, *Festuca humilior* y *Calamagrostis vicunarum* en tres momentos diferentes de cosecha.

Evaluar el porcentaje de germinación y viabilidad de las semillas de *Festuca dolichophylla*, *Festuca humilior* y *Calamagrostis vicunarum* en tres momentos diferentes de cosecha.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Rehabilitación de pastizales

Según Royo (2006), la rehabilitación viene a ser un conjunto de prácticas culturales cuya finalidad es tratar de reestablecer la vegetación que previamente existió. Tiene como objetivo disminuir la pérdida de suelo por erosión, favorecer la infiltración, incrementar la producción forrajera por área y mejorar la calidad de hábitat. Esta actividad puede ocurrir de forma natural o se pueden utilizar estrategias de recuperación. La recuperación natural involucra técnicas como: estimación más precisa de la carga animal, mayor ajuste en el factor de uso, utilización de un adecuado sistema de pastoreo, combate de arbustivas y/o plantas tóxicas. De forma artificial, estas áreas se pueden recuperar mediante dispersión de semillas o trasplantando especies forrajeras, acompañados siempre de buenas prácticas de conservación de suelo.

Las estrategias de mejora de pastizales también están clasificadas en extensivas (manejo de aguadas, sistemas de pastoreo y gestión de fuego) e intensivas (control de plantas indeseables, siembra, fertilización y revegetación). En el mundo, la recuperación de pastizales por medio de actividades pasivas, manejo de cubiertas vegetales, creación de micrositios favorables para el establecimiento y el crecimiento de plantas o enmiendas orgánicas ha restaurado mucha más superficie que actividades activas (Marqués *et al.*, 2007). Sin embargo, estas últimas son necesarias cuando las áreas sufren una degradación continua, cuando la cubierta vegetal no se puede recuperar y cuando es deseable acelerar la sucesión secundaria (Rey, 2006).

El control de plantas indeseables, revegetación y/o fertilización podrían resultar en un incremento en la producción del pastizal de 100 a 1000 por ciento dentro de uno a tres años (Herbel, 1983). Dentro de las técnicas de manejo y recuperación de pastizales, la elección de la estrategia depende de las condiciones en las que se encuentra el pastizal, el origen de la degradación, el tipo de suelo y los costos que involucra su aplicación.

Para que un programa de rehabilitación de pastizales basado en semilla botánica obtenga éxito a mediano y a largo plazo es necesario realizar estudios en ecología y ecofisiología de las semillas, así como su aplicación en la conservación y manejo de la vegetación en áreas degradadas. Además, es importante contar con la información de la fenología reproductiva, dispersión, viabilidad, dormancia y germinación de las semillas. Algunas semillas de ciertas especies pueden ser almacenadas por periodos de tiempo largos sin deteriorarse ya que poseen características físicas y fisiológicas que la permiten (Baskin y Baskin, 2001). Estas características permiten cosechar y almacenar las especies claves e importantes para una futura restauración ecológica, manteniendo la posibilidad de germinar y así colaborar en la recuperación de los ecosistemas. En la actualidad existe poco conocimiento y pocas investigaciones en el tema de reproducción de especies nativas con fines de restauración de ecosistemas (Castañeda *et al.*, 2006) y esta necesidad es cada vez mayor pues se debe contar con material vegetal de buena calidad que permita desarrollar proyectos a mayor escala y sobre todo a largo plazo. Un parámetro importante y necesario a investigar es la germinación, así como también los diferentes requerimientos para que esta se lleve a cabo, con la finalidad de obtener protocolos de germinación de especies claves para la recuperación de pastizales. El origen de las semillas es uno de los factores más influyentes en un proceso de recuperación de pastizales, pues por lo general, las especies locales tienen mayores ventajas adaptativas sobre las especies no locales. Uno de los problemas que se podrían producir al introducir especies foráneas, es la alteración en la estructura genética de las poblaciones locales ya que al introducir genotipos externos trae como consecuencia la hibridación intraespecífica y una probable reducción de aptitud en las generaciones subsecuentes (Edmands, 2007; Hufford y Mazer, 2003). En ciertas investigaciones se observó que el material genético no local suele tener inconvenientes en la adaptación lo cual podría provocar como consecuencia negativa en agentes polinizadores afectando la avifauna y entomofauna (Hubert y Cottrell, 2007). Por otro lado, también puede suceder que las especies introducidas sean más fuertes que las especies locales y lleguen a ser invasores generando un impacto negativo sobre las especies de plantas y animales involucrados (Hubert y Cottrell, 2007).

En un proceso de recuperación de pastizales es necesario seleccionar las especies apropiadas y estas no solamente incluyen atributos en estado adulto, sino atributos que favorezcan la obtención de material vegetal en la cantidad y calidad requerida, esto a su vez está muy relacionado con estrategias de reproducción y germinación (Martínez-Peña *et al.*, 2012). Ahora bien, así como existen factores que favorecen el éxito de un programa, también hay



ciertas condiciones que dificultan el proceso de recuperación. Korner (2003) propuso que la mayor pérdida de individuos en alta montaña se lleva a cabo en los procesos de germinación y el establecimiento de plántulas. Esto se debe a que estas semillas y plántulas están sometidas a ciertas condiciones como las bajas temperaturas, alta radiación solar, bajos niveles de oxígeno, suelos con buen o mal drenaje, suelos ácidos, etc. Un factor muy condicionante es la baja temperatura, esta condición suele ocasionar una menor tasa metabólica en el embrión y otros tejidos internos de las semillas lo cual produce una lenta tasa de consumo de sus reservas nutricionales favoreciendo el mantenimiento de semillas viables en el suelo por prolongados periodos de tiempo (Billings y Mooney, 1968), sin embargo estas bajas temperaturas también pueden generar que las semillas una vez dispersas estén inmaduras lo cual impediría su germinación de forma inmediata. Así como la temperatura la altitud también juega un rol muy importante. En zonas altas templadas de Chile, conforme aumenta la altitud, hay mayores fluctuaciones climáticas, esto provoca que los suelos en zonas altas tiendan a ser pobres en nutrientes provocando competencia entre individuos y como consecuencia mayor dormancia de las semillas por aumento de la competencia tanto dentro como entre especies (Cavieres, 1999).

### **2.1.1 Revegetación**

Dentro de las prácticas de mejora y recuperación de pastizales, la revegetación es una actividad que genera mayor incremento en la producción entre 100 a 1000 por ciento dentro de los 3 primeros años (Herbel *et al.*, 1977). Esta actividad puede ser realizada utilizando semilla botánica o semilla vegetativa y se lleva a cabo en áreas donde la vegetación fue perturbada significativamente, las especies deseables representan menos del 30% de la cobertura vegetal, existe una severa disminución del potencial forrajero, cuando existe riesgo de erosión de suelo o cuando la recuperación natural es muy lenta o imposible. En la revegetación se recomienda realizar intersembras, esto es, sembrar en bandas ya que hacer siembras totales implica alto riesgo económico y ecológico (Royo, 2006). Este riesgo se debe a las fluctuaciones de la lluvia pues para tener éxito es necesario que el suelo mantenga un elevado porcentaje de humedad por varios días de tal forma que los esquejes puedan establecerse adecuadamente. Por otro lado, es necesario el uso de especies nativas en ambientes con condiciones similares a las áreas degradadas de tal manera que los esquejes y plántulas puedan adaptarse sin complicaciones (Madejon *et al.*, 2003). Sin embargo, el limitado conocimiento sobre las especies nativas que son adecuadas para la revegetación de pastizales degradados y el débil establecimiento de estas ha resultado en el uso generalizado

de especies exóticas, especialmente plantas de porte bajo y leguminosas de rápido crecimiento, donde muchas de estas especies son de carácter invasivo y conlleva a la pérdida de diversidad local (Barbosa *et al.*, 2010).

La siembra con semillas generalmente es menos costosa y más práctica que el trasplante de esquejes en áreas extensas. Sin embargo, el uso de esquejes puede ser la mejor opción en situaciones donde el ecosistema pasa el umbral abiótico ya que permite un establecimiento y recuperación más rápido comparado con el uso de semillas botánicas donde el tiempo de recuperación es mayor (Goeldner, 1995). En muchos proyectos de revegetación, la siembra de esquejes y semillas botánicas es un enfoque más práctico y ofrece mejores resultados (Buckner, 2010). En un ambiente que ha sido sobre pastoreado por muchos años y dañado por condiciones climáticas, son las especies nativas las que han sobrevivido y por ende en un plan de rehabilitación se recomienda proteger la vegetación nativa sobreviviente tanto como sea posible sumado a la siembra de plántulas (Gao *et al.*, 2002). La revegetación utilizando esquejes de *Calamagrostis vicunarum* y *Festuca humilior* en pastizales degradados en la Cordillera Blanca con la incorporación de materia orgánica en forma de orina y estiércol de ovino mostró efectos positivos en la cobertura vegetal, la sobrevivencia, la densidad de plantas, la infiltración y el contenido de humedad del suelo (Tácuna *et al.*, 2015). Por otro lado, la adición de nutrientes inorgánicos como nitrógeno y fósforo mostró buenos resultados en el distrito de Marcapomacocha región Junín al evaluar el establecimiento de plántulas de *Festuca humilior* que incrementó en 50% (García, 2016).

### **2.1.2 Uso de semilla botánica en la recuperación de pastizales**

La importancia de las semillas y del material vegetal ha sido conocida en la silvicultura durante más de 100 años (Engler, 1908; Zon, 1913 y Baldwin, 1933). Sin embargo, esta importancia fue muy descuidada en la restauración de praderas hasta los años noventa. Desde entonces, se ha utilizado en mayor medida los conocimientos de diferenciación ecotípica y adaptación regional de las plantas en el contexto de la restauración ecológica (Hufford y Mazer, 2003 y Johnson *et al.*, 2004). Pese a la gran importancia del uso de semilla botánica nativa en la recuperación de pastizales, existen restricciones para su establecimiento. Los principales desafíos son la latencia de semillas, los apéndices de semillas, la calidad, el crecimiento lento o crecimiento inicial, la pobre competitividad con las malezas, la falta de información sobre métodos de siembra como compatibilidad de semillas en una mezcla, la fertilización y la tasa de siembra (Darris, 2005).

El uso de la mezcla de semillas nativas perennes (*Bromus carinatus*, *Elymus glaucus*, *Meliza californica* y *Stipa pulchra*) y exóticas perennes (*Dactylis glomerata* y *Phalaris tuberosa* var. *stenoptera*) en la recuperación de áreas invadidas por gramíneas invasoras, *Centaurea solstitialis*, presentan un incremento en la cobertura, aumentan la diversidad, mejoran la productividad y la calidad de forraje en pastizales de California (Eastburn *et al.*, 2018). En pastizales sobrepastoreados, la presencia de arbustos y pastos no palatables están en constante aumento, frente a ello el uso de semillas de especies palatables de buenas características adaptativas como *Poa ligularis* en combinación con actividades mecánicas orientadas a las especies indeseables obtuvo buenos resultados en el Centro de Argentina (Distel *et al.*, 2008). La adición de actividades mecánicas en el suelo, rastrillado o rasgado, a la siembra de semillas nativas (*Acacia tetragonophylla* F. Muell., *Atriplex bunburyana* F. Muell. y *Solanum orbiculatum* Poir.) presenta mejores resultados que el uso de plántulas comerciales o el uso de gel para mantener la humedad durante el establecimiento (Commander *et al.*, 2012).

Estas investigaciones demuestran que es posible mejorar las condiciones del suelo y la vegetación mediante el uso de semillas, además un adecuado uso de actividades mecánicas orientadas a mejorar la superficie del suelo o combatir la presencia de especies no deseadas acelerarán el proceso de mejora de pastizales. Es necesario que estas siembras se realicen en determinadas épocas del año con la finalidad de aprovechar la humedad natural, la temperatura y la precipitación pues estas condiciones serán beneficiosas para la germinación y establecimiento de las especies nativas (Horton, 1989). Sin embargo, en pastizales altoandinos la obtención de semillas botánicas para revegetación presenta una restricción, estas no maduran todos los años al mismo tiempo ni en la misma proporción, por ello es necesario revisar constantemente los planes de recolección de semillas y llevar a cabo un seguimiento detallado al desarrollo de las semillas, flores e inflorescencias.

## **2.2 Ecología de semillas**

Con el paso de los años y el proceso evolutivo, las plantas vasculares (gimnospermas y angiospermas) han desarrollado una estructura reproductiva única y muy importante, que es la semilla. Esta estructura contiene tejidos procedentes tanto de la planta madre como del nuevo individuo, son óvulos maduros que contienen un embrión y almacenan nutrientes dentro de una cubierta protectora (Vander Wall *et al.*, 2005); estas reservas son de mucha utilidad durante las primeras etapas de crecimiento de la nueva planta y a excepción de las semillas recalcitrantes, son más resistentes al daño y estrés ambiental que los propágulos

vegetativos. Las semillas son consideradas como la unidad de dispersión total (diáspora) (Schmidt, 2000). Gracias a estos mecanismos las semillas han logrado que las plantas se colonicen y diversifiquen en todos los ambientes de la corteza terrestre excepto en los hielos polares y de alta montaña. En la actualidad existe una gran diversidad de formas, tamaños y estructuras de semillas. Un ejemplo viene a ser el peso de una semilla, esto puede variar desde las minúsculas semillas de orquídeas hasta las gigantescas semillas de algunas palmas. Según Baskin y Baskin (2001) las semillas juegan cuatro papeles importantes en la persistencia de las especies tales como: la reproducción, la dispersión dentro de la misma comunidad, la expansión a nuevos territorios y hábitats, y la supervivencia del germoplasma en condiciones ambientales no favorables.

El proceso de desarrollo y formación de la semilla en la planta madre empieza con el embrión contenido en la semilla desarrollándose a partir de un huevo fecundado del saco embrionario del óvulo. Este proceso puede llevarlo a cabo desde una estructura simple de pocas células hasta estructuras relativamente complejas que posteriormente se dividen en partes de un nuevo individuo: hipocotilo (futura raíz), epicótilo (futura copa) y cotiledones (hojas embrionarias). Posteriormente el desarrollo del embrión se interrumpe, se produce una deshidratación tanto en el embrión como en los tejidos que componen la semilla. Estos últimos acontecimientos indican que toda la estructura va quedando lista para la separación de la planta madre, es decir, la diseminación (Bewley *et al.*, 2013).

Después de la diseminación de semillas al medio ambiente donde ya pierde contacto con la planta madre, estas semillas quedan totalmente desprotegidas de la envoltura de la inflorescencia o fruto, entonces, en esta etapa ingresan los diferentes mecanismos de dispersión pues muchas veces estas semillas son transportadas en el interior de animales o sobre su piel (zoocoria), por el viento (anemocoria) o por el agua (hidrocoria). El ser humano también ha participado en los procesos de dispersión causando muchas veces fenómenos de invasión. El traslado ya sea voluntario o involuntario de algunas especies con alta capacidad reproductiva conlleva a una dispersión amplia, problemas de salud, problemas económicos, pérdida de biodiversidad, entre otras consecuencias negativas que se vienen observando en muchas partes del mundo, aquí también es necesario considerar las características superficiales del suelo como un componente importante en la dispersión (Jhonson y Fryer, 1992). A raíz de la diseminación, el cambio que sufre la semilla tiende a ser radical, pues pasa de un ambiente protegido a uno donde está en manos del azar, ya que

tiene que llegar a un ambiente húmedo y favorable que propicie la reiniciación del crecimiento del embrión; todo esto conduce a que el número de individuos que se establecen exitosamente en un terreno es mínimo en comparación con el número de semillas producidas. En la naturaleza también existen semillas que se acumulan sobre el suelo y estas empiezan a conformar el banco ecológico de semillas; conforme pasa el tiempo algunas de estas semillas pierden su viabilidad y otras permanecen enterradas en el suelo conformando el banco de semillas que pueden reemplazar a plantas adultas que mueren por causas naturales o disturbios (Fenner, 1995). Las plántulas que vienen creciendo como consecuencia de las buenas condiciones en los bancos de semillas son llamados bancos de plántulas que vienen a estar conformadas generalmente por especies sucesionales tardías, lo cual ocurre en ecosistemas boscosos.

En la naturaleza, desde antes que la semilla logre establecerse, este corre un riesgo enorme, pues puede llegar a ser el alimento de algún predador, aquí se establece una gran disyuntiva evolutiva que tiene importancia en el proceso de evolución de las características fisiológicas y estructurales que conlleva a la gran diversidad de semillas. Por otro lado, también existe otro riesgo el cual las semillas deben de asumir, el cual es el momento en que estas deben de caer a la superficie del suelo. Este suceso puede darse en temporadas favorables (templadas, cálidas o húmedas) o desfavorables (secas y/o frías). Ahora bien, ambos sucesos, tanto la depredación y el momento de diseminación de semillas, jugaron un rol muy importante durante todo el periodo de evolución y adaptación. En situaciones donde el riesgo a ser depredado es más fuerte que el de germinar en un periodo ya próximo a la temporada fría o seca, donde el establecimiento de una nueva planta probablemente sea un fracaso, la tendencia será la germinación rápida, la probabilidad de establecimiento será casi nula bajo esas condiciones. Estos sucesos condicionan a que la supervivencia del nuevo individuo dependa de la capacidad para mantenerse en un estado de inhibición del metabolismo e interrupción del desarrollo hasta el momento en el que llegue la temporada templada, cálida o húmeda, este proceso comúnmente es llamado latencia o letargo.

Existen básicamente dos tendencias que determinan los mecanismos de latencia y de estructuras: la germinación inmediata y la presencia de una fisiología “de espera”, este último mecanismo afecta en gran medida su longevidad potencial, es decir afecta la duración de la vida de esta semilla en condiciones de almacenamiento adecuadas La deshidratación, que se lleva a cabo previo a la diseminación, es un proceso que se realiza

sólo de manera parcial, no se acumulan en él sustancias inhibidoras de crecimiento (hormonas) y el proceso de desarrollo sólo es interrumpido por el tiempo en el que la semilla permanece en el suelo. En la mayoría de las plantas, la deshidratación es relativamente drástica y a veces pueden acentuarse cuando la semilla es liberada en un ambiente muy seco. Por lo general, en semillas que poseen mecanismos de latencia, existen sustancias inhibidoras del crecimiento que alargan la duración del letargo y también sensores ambientales que detectan la presencia de condiciones óptimas y así promueven o activan el proceso de germinación (Vazquez – Yanez, 1990).

Con respecto al momento de germinación, son las condiciones durante la maduración como fotoperiodo, temperatura, calidad de luz; las que llegan a ser cruciales y suelen determinar el momento de germinación al interactuar con la ambiente post-dispersión. La germinación implica la imbibición en agua, un incremento en la actividad de respiración, movilización de reservas de nutrientes y el inicio del crecimiento del embrión. Este proceso es irreversible, ya que si la germinación ha comenzado el embrión está destinado al crecimiento o la muerte. De manera externa, la germinación es identificada por el quiebre de la testa y la extrusión de plúmula o radícula (Matilla, 2008).

Posterior a la germinación, el establecimiento de las plántulas representa la última etapa del proceso de regeneración. En la mayoría de casos, el establecimiento de la plántula está marcado por la extrusión de la radícula que ancla la plántula en el suelo, seguido de la plúmula, que crece hacia la luz. En el caso que la semilla se encuentre enterrada, la plúmula tiende a abrirse paso hacia la superficie, proceso en el cual utiliza energía. Al finalizar el proceso, la nueva planta enfrenta un conjunto de peligros, que la planta madre enfrentó en su momento. Factores como la ausencia de luz, agua o nutrientes tienen poco o ningún efecto sobre la supervivencia de semillas, sin embargo, estos pueden llegar a ser una de las principales causas de muertes en plántulas (Fenner y Thompson, 2005).

### **2.3 Formación y estructura de semillas**

En la actualidad es imposible negar la importancia de las semillas. Estas son la forma de sobrevivencia de muchas especies, protegen y sostienen la vida ya que pueden mantener el embrión intacto, en algunas especies durante años, hasta encontrar condiciones óptimas donde puedan establecerse. Son las semillas nativas sobre todo las que poseen estas características pues logran establecerse de manera natural en áreas sobre pastoreadas, suelos

removidos, campos agrícolas e incluso en pastizales previamente incendiados. Por tanto, las semillas ocupan una posición importante y crítica en el ciclo de vida de una planta. El éxito con el que estas plantas jóvenes reemplazarán a sus padres está en gran medida determinado por la fisiología y características bioquímicas de estas. Otro punto clave en el establecimiento exitoso de estas especies es la respuesta de las semillas a su entorno y la reserva de nutrientes que esta contiene; estos tendrán que estar disponibles en el establecimiento y crecimiento antes que se convierta en un organismo autótrofo capaz de utilizar energía lumínica (Bewley *et al.*, 2013).

La formación de semillas es un proceso común en muchas especies de pastos, pero existen algunas diferencias entre ellas. El desarrollo empieza con la fecundación, luego de esta etapa corresponde a la histodiferenciación, el crecimiento de la semilla y por último la fase de madurez. Las semillas ya desarrolladas y maduras de angiospermas están compuestas del embrión, producto de la fertilización del núcleo de la célula huevo con un núcleo espermático; el endospermo, surge por la fusión en el saco embrionario de dos núcleos polares y un núcleo espermático, viene a ser el tejido de reserva que ocupa un volumen importante en la semilla y varía entre especies. Estructuras importantes también son la capa de aleurona, almacén de proteínas y el complejo pericarpio testa que viene a ser la cubierta de la semilla en Poaceae (Matilla, 2008).

En la naturaleza, el tamaño y la forma del embrión es variable en relación con otras estructuras dentro de la semilla. En semillas maduras, monocotiledóneas o dicotiledóneas, el embrión ocupa menos espacio que en aquellas semillas que no poseen endosperma. En gramíneas, el embrión se encuentra ubicado en la base de la cara dorsal de las semillas. En el extremo superior presenta la plúmula, donde empiezan a desarrollarse los primordios foliares, sobre la plúmula se encuentra el coleóptilo que viene a ser una vaina protectora. En la zona ventral se encuentra el escutelo que viene a ser el único cotiledón, este órgano es el encargado de movilizar las reservas del endospermo hacia el embrión y para que puedan ser utilizadas en el momento de la germinación, la vaina basal del cotiledón se alarga para formar un coleóptilo que cubrirá las primeras hojas, y en algunas especies (por ejemplo, el maíz), el hipocotilo se modifica formando el mesocótilo. En el extremo inferior se encuentra la coleorriza, como base del hipocotilo protegiendo a la radícula (Colabelli *et al.*, 1998).

Las semillas pueden ser clasificadas como endospermicas y no endospermicas, esto en relación con la presencia o ausencia en una semilla madura. En cereales y algunas leguminosas endospermicas maduras, la mayoría de las células del endospermo no están vivas, esto se debe a que los contenidos citoplasmáticos han sido ocluidos por la acumulación de reservas durante el desarrollo, a esto se añade la muerte celular que esta fisiológicamente programada. Sin embargo, fuera del endospermo se encuentra la capa de aleurona, tejido vivo, que es responsable de la producción y liberación de enzimas para su posterior movilización. El endospermo posee una buena capacidad de retención de agua y este cumplen dos funciones: regular el balance hídrico del embrión durante la germinación y proporcionar reservas necesarias para el crecimiento inicial de las plántulas, estos principalmente son los carbohidratos, los aceites y las proteínas. Esta estructura también presenta compuestos en menor concentración como alcaloides, lectinas, inhibidores de proteínas, oligosacáridos entre otros que pueden ser nutricionalmente indeseables o incluso llegar a ser tóxicos (Pérez *et al.*, 1994).

## **2.4 Maduración y momento de cosecha**

### **2.4.1 Maduración de semillas**

La fase de madurez generalmente se completa con el desarrollo de la semilla. Esta fase inicia con la paralización de la división celular, en este periodo se observa un descenso en el peso fresco de la semilla como consecuencia de la pérdida de agua, alta tolerancia a la desecación y ausencia de alteraciones en el peso seco. En esta etapa hay elevados niveles de ácido abscísico y es el responsable de que, en la planta, la semilla no pase directamente de la embriogénesis a la germinación; además de la morfogénesis del embrión y la tolerancia a la desecación (Matilla, 2008).

#### **a. Madurez fisiológica**

Se define como el punto en el ciclo de maduración, en el cual se ha alcanzado el máximo valor de peso seco y vigor, es decir el máximo punto de calidad. Este punto generalmente implica cambios metabólicos necesarios para una futura germinación, hay una acumulación de sustancias promotoras, pérdida de sustancias inhibitoras, así como cambios en los niveles hormonales. Las semillas pueden alcanzar la madurez fisiológica al mismo tiempo que la madurez morfológica o días, semanas, meses o incluso años después (Santamarina *et al.*, 2004).



b. Madurez morfológica

Es el momento en el cual las diferentes estructuras que forman a una semilla están desarrolladas en su totalidad, principalmente el embrión. Esta madurez se lleva a cabo en la planta antes de la dispersión, así mismo no implica que las semillas ya formadas tengan la capacidad de germinar (Santamarina *et al.*, 2004). Frecuentemente está relacionada con la deshidratación de los diferentes tejidos que forman la semilla.

#### **2.4.2 Indicadores del momento de cosecha**

La cosecha de semillas es una etapa muy importante ya que de esta suele depender el éxito o fracaso de un proceso de recuperación de pastizales mediante semillas botánicas. Esta etapa sería fácil si se conociese la fenología de las especies de interés, de lo contrario, se deben realizar acercamientos a través de salidas periódicas que permitan determinar la temporada de dispersión (Schmidt, 2000). El momento de cosecha de semillas depende muchas veces de las estaciones climáticas, en lugares con estaciones bien definidas el tiempo en el cual hay producción de semillas es específica y corta (Fung y Hamel, 1993), por otro lado, en climas estacionales las semillas maduran normalmente durante la estación seca tardía o la estación de lluvia temprana donde las condiciones secas son ideales para la colecta de semillas (Schmidt, 2000).

En pastizales de climas fríos es difícil definir el momento óptimo de cosecha porque la maduración de las semillas no es uniforme y estas caen cuando ya están maduras (Andersen y Andersen, 1980). En teoría, el momento óptimo de cosecha ocurre cuando el peso de semillas maduras que se encuentran aún en la inflorescencia compensa al peso perdido por semillas maduras caídas; identificar este momento es una de las decisiones más importantes que tomará un productor de semillas de pastos.

En pastos, la antesis o floración está asociado, con la hinchazón de la lodícula, cuando la lodícula se vuelve erecta, la lemma se ve forzada hacia afuera mientras que las anteras quedan expuestas por el crecimiento acelerado de los filamentos. En esta etapa, la falta de uniformidad en los flósculos de las inflorescencias y la diferencia de estas en los macollos hacen que la floración se extienda por un largo periodo (Anslow, 1962). Debido a este desarrollo desuniforme de inflorescencias, identificar el pico de floración dentro de un macollo es trabajoso, sin embargo, se puede definir al pico de floración como el momento o día donde se observa el mayor número de flores abiertas.

Las gramíneas necesitan entre 20 a 30 días después de la floración para que las semillas maduren adecuadamente. Esto puede variar debido a que el periodo de floración y desarrollo de la semilla dura de varios días a dos semanas obteniendo como resultado una maduración irregular (Najda *et al.*, 2005), esto concuerda con Horton *et al.*, (1990) que menciona que el paso del estado de floración al de madurez tiene una duración de 30 días y con National Resource Conservation Service (NRCS, 2006) que reporta 30 días como duración de este periodo.

El estado de madurez alcanzado por las plantas al momento de la cosecha, además de incidir en la calidad de la semilla, produce dificultades en la trilla y en el almacenaje afectando también la emergencia y la sobrevivencia de las plántulas en el campo (Hebblethwaite y Ahmed, 1978). Por lo tanto, para obtener semillas con características óptimas y con capacidad de ser utilizadas en la recuperación de pastizales degradados es necesario llevar una cosecha oportuna de acuerdo con el grado óptimo de madurez. Esto hace importante y necesario realizar inspecciones diarias durante el periodo de floración para así poder decidir en qué momento las semillas se encuentran maduras.

Teóricamente, el punto de madurez fisiológica sería el momento más indicado para la cosecha, pues representa el momento en que la calidad de la semilla es máxima. Evidentemente, la cosecha de semillas en esta etapa se torna difícil pues la planta presenta un alto contenido de agua donde la semilla al ser cosechado sufriría daños mecánicos y habría la necesidad de utilizar un método rápido y eficiente de secado, estas actividades en la práctica no siempre son posibles (Moore *et al.*, 1991). Por ello, el intervalo entre la maduración y la cosecha puede variar de unos días a varias semanas, además en este periodo las condiciones climáticas no siempre son favorables para la preservación de la calidad de la semilla, lo cual alargaría más aun el momento de cosecha. Algunas especies presentan coincidencia entre el máximo peso seco de la semilla y la máxima viabilidad y vigor. Por otro lado, otras especies alcanzan primero el máximo peso seco y luego la máxima viabilidad y vigor. Raja Harun y Bean (1979) encontraron coincidencias entre el máximo peso seco de la semilla, la germinación y el vigor en *Lolium multiflorum*. En *Bromus auleticus*, la máxima germinación coincidió con el máximo peso de mil semillas (Ruiz *et al.*, 2003), pero este valor de germinación no difirió significativamente del que se había producido 6 días antes. Las semillas de *Bromus auleticus* alcanzan la madurez fisiológica entre los 24 y 30 días posteriores a la antesis, periodo en que coinciden la máxima viabilidad y el vigor con el

máximo peso seco (Ruiz *et al.*, 2003). Existen indicadores que en algunas especies permiten identificar el momento óptimo de cosecha, entre ellos podemos mencionar los siguientes: días posteriores a la antesis o floración en *Phalaris acuatia*, la dehiscencia de las panojas en *Festuca arundinacea*, el cambio de color de las glumas en avena, el color de la hoja bandera que indica el grado de llenado en el trigo y la consistencia del endosperma usada de forma conjunta con el contenido de humedad. Rodríguez (1998) menciona que en el caso de *Festuca breviaristata* un indicador confiable de madurez fisiológica viene a ser el cambio de coloración que presentan las lemmas, de verde a amarillo pálido, además las flores que logran cuajar alcanzan la madurez fisiológica en un tiempo aproximado de 4 semanas, siendo la tercera y cuarta la de mayor intensidad.

Según Najda *et al.* (2005), el momento ideal para la cosecha es cuando la semilla está en la etapa de masa media a dura y aún permanece firmemente unida. La prueba de humedad en la semilla (35-50 por ciento) es un indicador útil de cuando es necesario cosechar pues una cosecha demasiado temprana, con alto contenido de humedad, acorta el periodo de madurez de la semilla, obteniendo una semilla inmadura y de tamaño reducido; por otro lado, una cosecha tardía con bajo contenido de humedad obtiene como resultado una reducción en el rendimiento y pérdidas por fragmentación de semillas (Klein y Harmond, 1971). Es imposible negar que el clima juega un rol muy importante en el momento de cosecha de semillas, pues en condiciones poco favorables como lluvias, elevadas temperaturas o elevada humedad relativa del aire, las semillas sufren un deterioro considerable. El clima con condiciones secas reduce el tiempo que requiere la semilla para la madurez, mientras que las condiciones húmedas la retrasan. En algunas gramíneas sometidas a condiciones de clima seco, el paso de floración a madurez puede tomar solo entre tres a cuatro días (Horton *et al.*, 1990). Frente a estas condiciones climáticas variables y muchas veces inesperadas los pastos vienen alterando su fenología, dentro de ella su tiempo de floración que viene a ser una etapa crítica e importante en la prevalencia de su especie. Esta capacidad de alterar su tiempo de floración puede variar de acuerdo con sus características funcionales, es decir a sus rutas fotosintéticas. Los pastos con ruta fotosintética de las C3 generalmente en condiciones cálidas aceleran su tiempo de floración, mientras que las especies con ruta C4 en temperaturas cálidas logran fotosintetizar más eficientemente y pueden retrasar su tiempo de floración (Sherry *et al.*, 2007). En el caso de plantas anuales y perennes también puede haber diferencias, las pastos anuales pueden tener una mayor capacidad de alterar el tiempo de floración respecto a las perennes, esto se debe a que las plantas anuales tienen la capacidad

de aprovechar con mayor eficiencia las condiciones de crecimiento favorables para así producir una mayor biomasa, estas altas tasas de crecimiento y rápido desarrollo fenológico son importantes para reproducirse antes que ocurran condiciones desfavorables (Van Kleunen, 2007). Durante el desarrollo de las semillas ocurren diferentes modificaciones en sus características físicas y fisiológicas como: el contenido de materia seca, el porcentaje de germinación, el vigor, el grado de llenura y el contenido de agua; estas características se encuentran sujetas muchas veces a factores climáticos o estado nutricional de las plantas.

## **2.5 Características físicas de las semillas**

La calidad de semilla se refiere a la capacidad de germinar y producir una planta normal, está determinada por un complejo de condiciones que son producto de la interacción entre las características genéticas, el medio en el cual estas se cosechan, procesan y almacenan. Una semilla con buenas características físicas es un factor muy importante en la obtención de una buena población de plántulas y un rápido desarrollo de estas aún bajo condiciones adversas, aunque otros factores como la lluvia, las prácticas agronómicas, la fertilidad del suelo y el control de plagas también sean cruciales (FAO, 2011).

### **2.5.1 Pureza**

El concepto de pureza se define en pureza física y pureza varietal o genética. Pureza física es el porcentaje en peso de la semilla de la especie deseada respecto al total de la muestra, el objetivo del análisis es determinar la composición, el porcentaje en peso de la muestra ensayada y por inferencia la composición del lote de semillas, la identidad de las distintas especies de semillas y materia inerte que constituyen la muestra (ISTA, 2016).

Según ISTA (2016) se consideran tres componentes: semillas puras, otras semillas y materia inerte.

#### **a. Semilla pura**

Comprende a las especies indicadas por el solicitante, dentro de este componente se incluyen todas las especies botánicas y cultivares de esas especies. Aquellas semillas inmaduras, pequeñas, arrugadas, enfermas o germinadas pueden ser consideradas puras siempre y cuando pertenezcan a la especie en evaluación. En ciertos casos de *Poaceae* (*Gramineae*) como en *Lolium*, *Festuca*, *xFestulolium* y en *Elitrigia repens* una flor con la cariósida más grande de un tercio de la palea

medido desde la base de la raquilla, se considera como semilla pura u otra semilla. Sin embargo, una flor con la cariósida inferior de un tercio de la palea, se considera como materia inerte. En géneros como *Arrhenantherum*, *Avena*, *Bromus*, *Chloris*, *Dactylis*, *Festuca*, *xFestulolium*, *Holcus*, *Koeleria*, *Lolium*, *Poa*, *Sorghum* y *Triticum spelta* las flores estériles que se encuentran adheridas a flores fértiles no son separadas, se mantiene adheridas y son incluidas en la fracción de semilla pura (ISTA, 2016).

b. Otras semillas

El objeto de la determinación de otras semillas en número es estimar el número de semillas de especies diferentes a las deseadas que se encuentran dentro del lote a evaluar. Es necesario tener en cuenta la definición de semilla pura. Este componente se determina por conteo y se expresa como el número de semillas encontradas en el peso total de la muestra examinada (ISTA, 2016).

c. Materia inerte

Según ISTA (2016) en este componente se identifican las unidades de semilla y cualquier otra materia o estructura no definida como semilla pura u otras semillas siguiendo los siguientes criterios:

- Aquellas unidades de semilla en las que es evidente que no existe semilla verdadera.
- Flores de *Festuca*, *Lolium* y *Elitrigia repens* con una cariósida menor de un tercio de la palea medido desde la base de la raquilla.
- Los fragmentos de unidades de semilla rotos o dañados con la mitad o menos del tamaño original.
- Las flores estériles no insertadas, glumas vacías, lemmas, paleas, otras cubiertas, tallos, hojas, escamas de conos, alas, cortezas, flores, agallas de nematodos, cuerpos de origen fúngico tales como cornezuelos, esclerocios, tizón, tierra, arena, piedras y toda aquella materia que no sea semilla.

### 2.5.2 Peso

El peso de semillas es uno de los factores más importantes en el proceso de dispersión, germinación y establecimiento de plántulas (Kitajima y Fenner, 2000). En semillas comerciales, el análisis de peso es una medida fundamental ya que puede determinar el

precio que recibirá el productor. Esta característica física depende del tipo de la especie, contenido de humedad, lugar de origen, momento de cosecha e influencias ambientales. Entre más pequeña sea la semilla se producirá mayor cantidad de semillas que serán dispersadas a mayores distancias comparadas con semillas más grandes (Muller-Landau *et al.*, 2008).

La medición del peso de la semilla se realiza en el componente de semilla pura separado en el análisis de pureza. El peso puede ser expresado como el peso de 1000 semillas puras. Esta cifra nos permite convertir fácilmente al número de semillas por kilogramo. Según Bonner (1974), el peso puede ser determinado contando 1000 semillas y pesándola, sin embargo, ISTA (2014) recomienda 8 réplicas de 100 semillas cada una con la finalidad de calcular la desviación estándar, la media y el coeficiente de variación. Si el coeficiente de variación es menor a 4, se acepta la media, pero si, es más, se vuelven a pesar 8 repeticiones adicionales. Dentro de una determinada especie, las semillas llenas tienen un peso específico más alto y una tasa de germinación mayor que las semillas del mismo tamaño pero que se encuentran vacías o parcialmente llenas. Las semillas grandes suelen pesar más por semilla que las pequeñas del mismo peso específico, esto se debe a que contienen mayores reservas nutricionales, por ello es probable que muestren un mayor porcentaje de germinación y produzcan plántulas más vigorosas (Goor y Barney, 1976). El número de semillas puras por unidad de peso no es en si mismo una buena guía para el potencial de producción de la planta y debe complementarse con pruebas de germinación o pruebas indirectas de viabilidad.

$$\text{Número de semillas por gramo} = \frac{1000}{\text{Peso en gramos de 1000 semillas}}$$

$$\text{Número de semillas por Kg} = \frac{1000 \times 1000}{\text{Peso en gramos de 1000 semillas}}$$

### **2.5.3 Tamaño**

El tamaño es una característica muy importante al momento de evaluar una semilla. Esta característica depende de las especies y está asociado con la capacidad de dispersión y establecimiento (Wilson, 1983). Por otro lado, también se le atribuye importancia en la probabilidad de emergencia, establecimiento, supervivencia, forma de crecimiento y altura (Leishman y Westoby, 1994). Las semillas grandes tienen menos probabilidades de ingresar por las grietas o ser enterrados, mientras que las semillas de gramíneas, que poseen aristas,

tienen un fácil anclado y germinan rápidamente en la superficie del suelo (Peart, 1984). En teoría, las plantas deben producir semillas de un tamaño óptimo y con la misma distribución de nutrientes, sin embargo, en condiciones medioambientales variables o ausencia de nutrientes las plantas prefieren modificar la producción de semillas antes que su peso (Haig y Westoby, 1988). Estas variaciones de tamaño dentro de la planta podrían ser de carácter adaptativo o ser el resultado de la distribución que la planta hace a cada una de sus estructuras.

## **2.6 Características fisiológicas de las semillas**

La calidad de la semilla está determinada por efectos de sus atributos genéticos, físicos, fisiológicos y de la interacción entre ellas. La calidad fisiológica se refiere a mecanismos propios de la semilla que determinan la capacidad que esta tendrá para germinar, establecerse y desarrollar todas las estructuras necesarias y así producir una planta normal (Basra, 1995).

### **2.6.1 Germinación**

Por definición, la germinación de una semilla en un laboratorio es la emergencia y desarrollo de la plántula a un estado donde el aspecto de sus estructuras esenciales indica si es o no posible desarrollarse en una planta normal en condiciones favorables en el suelo (Baskin y Baskin, 1998)

El proceso de germinación se inicia con la absorción de agua por los tejidos de la semilla, esta hidratación permite la activación y síntesis de enzimas las cuales descomponen las sustancias de reserva en compuestos más simples como azúcares. En esta etapa, la hidratación va acompañada con el incremento de la actividad respiratoria. Luego de la imbibición se llevan a cabo diferentes transformaciones metabólicas necesarias para el crecimiento, la absorción de agua disminuye y el consumo de oxígeno se vuelve estable. Posterior a ello, la semilla sufre cambios morfológicos como la elongación de la célula y aparición de la radícula. Tras romperse las cubiertas seminales por la radícula, se inicia el desarrollo de la plántula; esta etapa implica un elevado coste energético, por ello los compuestos simples obtenidos por las enzimas activadas o sintetizadas son trasladadas al eje embrionario, la plúmula y la radícula. La semilla sigue experimentando cambios metabólicos hasta llegar a ser una plántula. El tipo de crecimiento de las plántulas puede ser epigea, donde los cotiledones empujan sobre la superficie del suelo o hipogea, donde los cotiledones permanecen bajo la tierra (Black y Bewley, 2000).

a. Factores que influyen en la germinación

La germinación no solo está influenciada por el ambiente, sino también por las condiciones durante la maduración de la semilla en la planta madre (fotoperiodo, temperatura, calidad de luz) que interactúan con factores post-dispersión. El ambiente natural y las condiciones ecológicas están muy relacionadas con la calidad de la semilla y la capacidad de germinación que esta posee. La germinación de las semillas depende de factores tanto internos como externos como el agua, el oxígeno, la temperatura, el sustrato, la luz, la aeración, entre otros (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006).

El agua es un factor importante, ya que la semilla necesita elevadas condiciones de humedad durante la germinación. Generalmente, las semillas maduras son semillas secas y necesitan cantidades significativas de agua para reanudar su actividad metabólica. La penetración del agua tiene lugar a favor de un gradiente de potencial hídrico pues los potenciales hídricos dentro de la semilla suelen ser bajos. Al imbibir agua, las enzimas hidrolíticas son activadas y descomponen las reservas almacenadas permitiendo la germinación y el crecimiento de las plántulas sin fotosíntesis hasta que detecten la presencia de luz. Durante la germinación si el suelo está saturado de agua, podría disminuir la cantidad de oxígeno y evitar que la semilla germine, esto se debe a que se estaría impidiendo la respiración aeróbica la cual es la fuente principal de energía de la plántula hasta iniciarse la fotosíntesis (Matilla, 2008).

La temperatura influye sobre las enzimas y estas regulan la velocidad de las reacciones bioquímicas que ocurren en la semilla tras la imbibición. Generalmente cada especie posee semillas que germinan bajo un rango de temperatura y no germinarán por encima o por debajo de dicho rango (Zingel *et al.*, 2007). Las semillas de especies de climas tropicales germinan mejor a temperaturas elevadas mientras que semillas propias de climas fríos germinan mejor a temperaturas bajas. La iluminación es otro factor importante durante la germinación pues existen semillas que optan por germinar bajo condiciones de iluminación, semillas que prefieren germinar en la oscuridad e incluso semillas que son indiferentes a las condiciones de iluminación. Esta afinidad o rechazo por la iluminación varía entre especies y es importante conocerla antes de llevar a cabo la siembra.



A pesar de que la humedad, el oxígeno, la temperatura y la luz estén dentro de los parámetros necesarios para llevarse a cabo la germinación, existen especies que no logran germinar ya que sus semillas poseen latencia, esta condición puede ser endógena o exógena. Algunas semillas latentes pueden estar afectadas por hormonas como el ácido abscísico que promueve la latencia impidiendo la germinación o las giberelinas que promueven la germinación rompiendo la latencia (Matilla, 2008). Esta condición es reversible si se somete a la semilla a tratamientos con factores no esenciales para la germinación. Para romper la latencia exógena es necesario realizar métodos de escarificación que son el raspado, pequeños cortes, uso de químicos, entre otros. Para remover la latencia endógena o del embrión, la temperatura, la iluminación y el envejecimiento son factores que pueden actuar de manera independiente o en combinación (Varela y Arana, 2011).

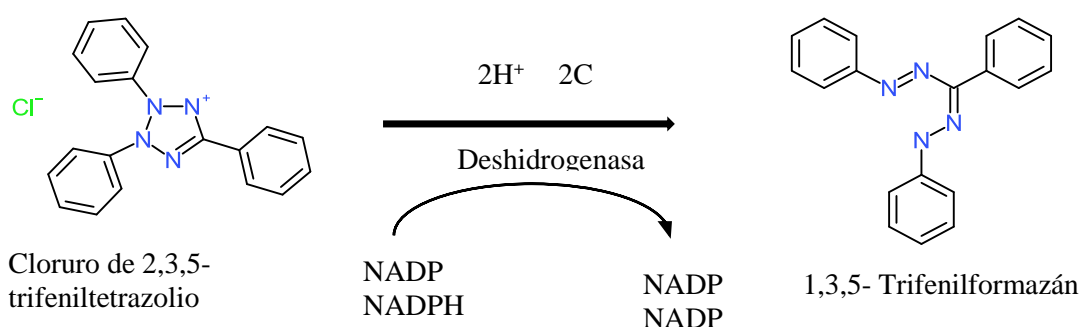
### **2.6.2 Viabilidad**

En ocasiones hay semillas que pese a estar en condiciones óptimas para germinar estas no lo hacen. Esto puede ser provocado por la latencia o por la pérdida de viabilidad el cual es un cambio degenerativo irreversible y generalmente representa la muerte de la semilla. Para que una semilla sea considerada como viable, es necesario que esta sea capaz de desarrollar una plántula en el campo bajo condiciones que pueden o no ser ideales (Heydecker, 1973). Se considera no viable a una semilla cuando pese a estar bajo condiciones casi óptimas, esta no logra germinar. En un lote de semillas, la prueba de viabilidad no solo permite observar la calidad de este lote, sino también permite observar diferentes factores que pueden estar influyendo en el comportamiento de las semillas como la dormancia y la mala calidad.

Muchos de los métodos más exitosos para estimar viabilidad en semillas son pruebas para enzimas o cierto grupo de enzimas. Estos ensayos de viabilidad deben cumplir con ciertos requisitos para una buena aplicación práctica. Deben permitir un examen y evaluación en cada semilla, los resultados observados deben ser fácilmente identificables que no requieran amplios conocimientos por parte del evaluador y por último, que la actividad enzimática debe estar estrechamente relacionada con la vida de la semilla (Delouche *et al.*, 1971).

### a. Ensayo topográfico con tetrazolio

De acuerdo con McDonald (1975), la prueba de tetrazolio es una prueba bioquímica considerada como un método indirecto en la estimación del vigor de la semilla. El ensayo se fundamenta en que, al ser hidratadas las semillas, hay un incremento en la actividad de las deshidrogenasas provocando la liberación de los iones de hidrógeno, estas enzimas deshidrogenasas están ligadas con la actividad respiratoria. Los iones de hidrogeno libres son transferidos al tetrazolio actuando este último como receptor (Figura 1). Este proceso provoca que haya una reducción de la solución de tetrazolio, que es incoloro, a formazán que es de color rojo. Este nuevo compuesto tiñe a las células vivas de color rojo dejando a las células muertas sin colorear, durante el proceso es necesario que la semilla sumergida en la solución no sea expuesta a la luz directamente. La rapidez con la que puede llevarse a cabo la reacción depende de factores como pH, concentración de la sal, temperatura, tiempo de reacción y tipo de corte. Este método se caracteriza por brindar resultados rápidos, alta precisión, confiabilidad, además no proporciona información como viabilidad del lote de semillas, vigor del lote de semillas, daño mecánico, daño por insectos, daño ambiental, fracturas y presencia de malformaciones genéticas. Sin embargo, esta prueba tiene algunas limitaciones y requerimientos como: no identifica daños químicos, no identifica daño por hongos, se necesita mucha paciencia, personal entrenado y apto para la toma de decisiones, esto debido a que la interpretación de los resultados es subjetiva e implica experiencia por parte del evaluador (Howarth y Stanwood, 1993).



**Figura 1.** Reacción de óxido-reducción que origina formazán.

La velocidad con la cual se reduce el tetrazolio puede ser afectada por diferentes factores como: la temperatura, la duración del precondicionamiento y la tinción, la concentración de la solución, daños en la semilla ya sea por hongos o insectos, la presión atmosférica y la intensidad de luz (Kruse, 1996).

## b. Tipo de corte

Para tener un ensayo exitoso es necesario que la solución de tetrazolio penetre en los tejidos vitales de la semilla. Por tanto, este método podría implicar realizar perforaciones y cortes superficiales, independientes de cada especie, que pueden llegar a ser una labor muy complicada sobre todo en semillas pequeñas. En algunas especies como alfalfa el corte no es necesario ya que el tetrazolio puede ser adicionado a la semilla intacta. En el caso de Poáceas, el tipo de corte depende de las semillas a evaluar, por ejemplo, en semillas pequeñas se recomienda hacer un corte lateral ligeramente por encima del embrión o lateralmente debajo del embrión, si las semillas son blandas se recomienda realizar una perforación con aguja en el área central del endospermo. Por último, también se podría realizar un corte longitudinal a través del embrión conservando la mitad para la tinción o dejar la semilla intacta en el extremo distal. En este último tipo de corte se necesitará una menor concentración de solución de tetrazolio (AOSA, 2017).

### III. MATERIALES Y METODOS

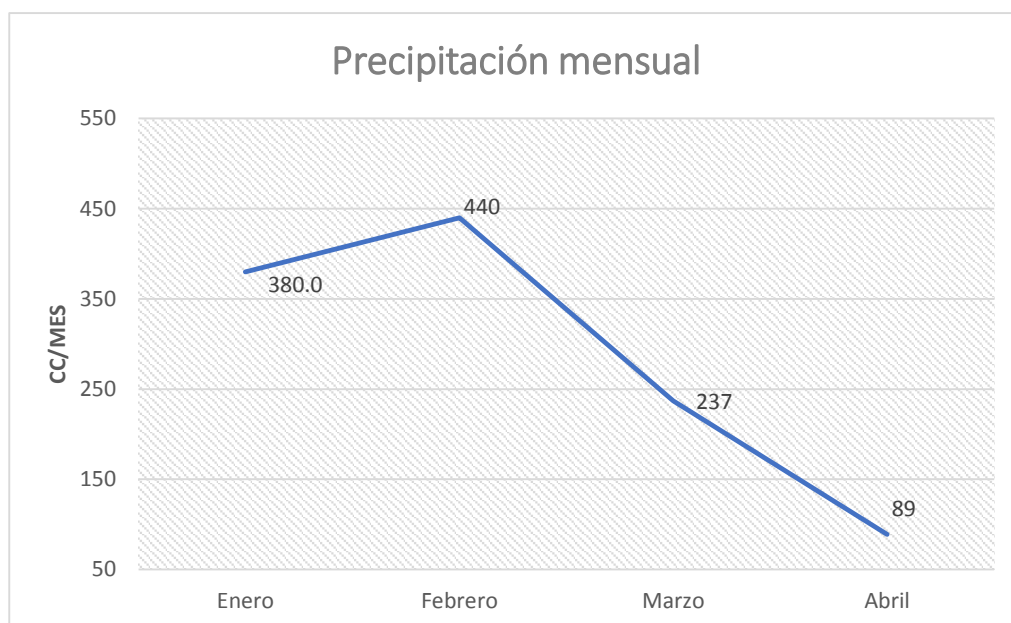
#### 3.1 Lugar de estudio

El lugar de estudio se ubicó en el área experimental de Mesapata perteneciente a la Unidad de Producción Consac de la Sociedad Agrícola de Interés Social (SAIS) “Túpac Amaru”, situada en la localidad de Pachacayo, provincia de Jauja, región Junín. La SAIS “Túpac Amaru” cuenta con más de 200 000 hectáreas y se encuentra dentro de la Reserva Paisajística Nor Yauyos-Cochas.

La investigación se llevó a cabo en 2 áreas cercanas, la primera con un área de 2500 m<sup>2</sup> y la segunda con 1000 m<sup>2</sup>. Estuvieron ubicados aproximadamente a -11.955183 de latitud y -75.707822 de longitud con una altitud promedio de 4164 m.s.n.m. De acuerdo con las características ecológicas el área corresponde a un páramo muy húmedo – Subalpino Tropical (pmh – SaT), la cual se extiende desde los 3 900 hasta los 4300 m.s.n.m. Posee un clima per húmedo – frío, con temperatura media entre 6 y 3 °C y precipitación promedio anual entre 600 y 800 milímetros. La vegetación corresponde a una pradera altoandina conformada por pastos naturales principalmente por gramíneas, en la primera área con predominio de los géneros *Festuca humilior*, *Calamagrostis vicunarum* y *Alchemilla pinnata* y en la segunda destaca la presencia de *Festuca dolichophylla*, *Calamagrostis vicunarum* y *Alchemilla pinnata*.

Los suelos presentan una textura franco arenoso con alto contenido de materia orgánica (6.32-7.26%), pH fuertemente ácido (4.21-5.54), nivel medio de potasio disponible (105-177ppm), pero un nivel de fósforo disponible bajo en la segunda área (5.1 ppm) y medianamente disponible en el primero (7.5 ppm).

Durante el periodo de evaluación en el campo, que correspondieron a los meses de enero – mayo del 2016, la temperatura promedio fue 14°C con promedio de temperatura máxima de 18°C y mínima de 11°C y la precipitación promedio fue igual a 286.5 cc/mes. En la Figura 2 se muestran datos históricos obtenidos por la estación meteorológica, perteneciente al Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú (SENAMHI), más próxima a la zona experimental.



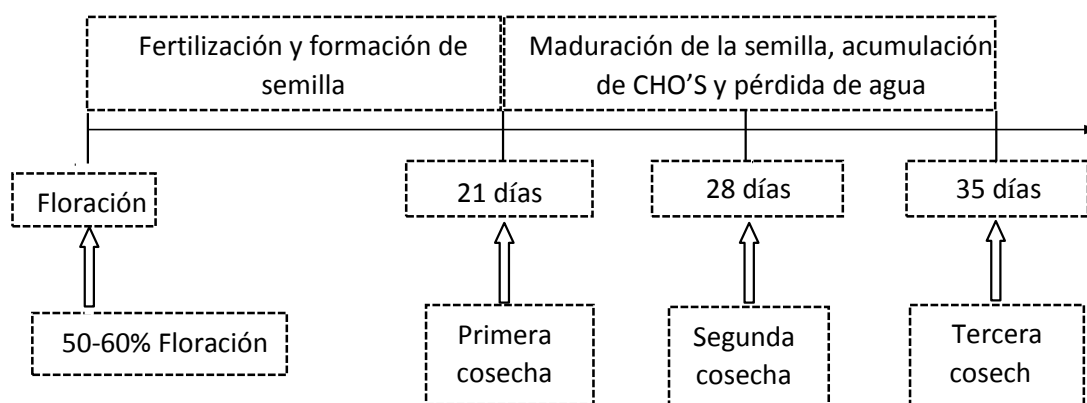
**Figura 2.** Datos obtenidos durante la evaluación

### 3.2 Metodología y monitoreo de unidades experimentales

La implementación del estudio se inició con el cercado de las dos áreas de estudio, dentro de las cuales se identificaron 30 plantas de *Festuca humilior* y *Calamagrostis vicunarum* en el área 1 y 30 plantas de *Festuca dolichophylla* en el área 2. Estas plantas además de estar distribuidas de forma uniforme en toda el área de estudio presentaron un estado de desarrollo y crecimiento semejante. En cada una de las 30 plantas se identificaron 3 inflorescencias en el inicio de su desarrollo reproductivo.

Las inflorescencias identificadas en cada una de las 30 plantas por especie fueron evaluadas cada 3 días con la finalidad de determinar el momento más próximo a la antesis o floración plena. En gramíneas perennes la antesis o floración plena puede ocurrir en varios días para una inflorescencia y en muchas especies ocurre durante ciertos periodos de tiempo (Hovin, 1980) por tal motivo, durante el monitoreo del desarrollo reproductivo, las inflorescencias fueron divididas en tres partes: porción superior, media e inferior. Estas porciones fueron identificadas por la presencia de anteras, estructuras que emergen en la antesis o floración plena, que emergieron primero en la porción superior luego en la porción media y por último en la porción inferior. Cuando las anteras se encontraron presentes en un 50 – 60% de toda la inflorescencia, este momento de desarrollo fue utilizado como referencia de floración plena.

Identificado el momento de floración plena se determinaron tres momentos de cosecha de la semilla (Figura 3): 21, 28 y 35 días aproximadamente después de la floración plena, las cuales correspondieron a la primera, segunda y tercera cosecha de semillas (Ehlke y Undersander, 1990). Estos momentos de cosecha se basaron en investigaciones (Ruiz *et al.*, 2003) que concluyen que, para obtener una semilla madura con buenas características físicas y fisiológicas es necesario llevar a cabo la cosecha entre 24 a 30 días posteriores a la antesis o floración plena (Horton *et al.*, 1990) con un contenido de humedad entre 40 – 43% de humedad (Thomas *et al.*, 2010) o 45% (Stanisavljevic *et al.*, 2012).



**Figura 3.** Momentos de cosecha de acuerdo con la formación y maduración de semillas.

Llegado el momento de cosecha, cada inflorescencia fue cortada a 5 cm de la base del raquis y colocadas en bolsas de papel rotuladas y almacenadas en cajas de Tecnopor para luego ser transportadas al laboratorio. En el laboratorio, las muestras fueron mantenidas a temperatura ambiente por el periodo de un mes con la finalidad de que las inflorescencias pierdan humedad. Al cumplir el mes de almacenamiento a temperatura ambiente, las muestras fueron almacenadas a 10°C.

### 3.3 Muestra de trabajo

Para el análisis de pureza, la muestra de trabajo estuvo conformada por cada una de las inflorescencias, obteniendo así el porcentaje de pureza por inflorescencia. Para los análisis de tamaño, peso, germinación y viabilidad la muestra estuvo conformada por el conjunto de semillas puras obtenidas en cada momento de cosecha dentro de cada especie evaluada.

### 3.4 Momento óptimo de cosecha

#### 3.4.1 Características físicas de las semillas

##### a. Pureza

Para determinar la clasificación de una semilla como pura, se siguió la metodología y la definición de semilla pura establecida por International Seed Testing Association (ISTA, 2006) que considera como semilla pura u otra semilla a una flor con la carióspside más grande de un tercio de la palea medido desde la base de la raquilla, a su vez considerando como materia inerte a una flor con la carióspside inferior de un tercio de la palea. Durante la evaluación cada muestra de trabajo se clasificó en tres componentes:

- Semilla pura
- Otras semillas
- Materia inerte

Las muestras de trabajo correspondieron a las inflorescencias colectadas de las tres especies evaluadas en los tres momentos de cosecha. La separación de la muestra fue manual y se basó en un examen visual de cada partícula.

Este examen visual fue realizado en todas las semillas presentes en la muestra de trabajo. Para esta evaluación se necesitaron pinzas, lupas de mano con aumento de 20X y luz reflejada de estereoscopio binocular marca Van Guard a fin de poder separar e identificar semillas puras, otras semillas y materia inerte. El porcentaje de cada componente se obtuvo a través del peso correspondiente en relación con el peso total de la muestra.

$$\text{Pureza \%} = 100 \times \frac{\text{Peso de la fracción de semilla pura}}{\text{Peso total de la muestra de trabajo}}$$

##### b. Peso de semillas

Debido al bajo peso y a la poca cantidad de semillas puras obtenidas, solo se trabajó con el peso de 100 semillas por cosecha dentro de cada especie evaluada.

Para el pesado de semillas se utilizaron pinzas, placas Petri y una balanza analítica marca ADAM modelo NIMBUS NBL254e con legibilidad igual a 0.0001.

El cálculo de semillas por gramo se realizó de la siguiente manera:

$$\text{Número de semillas por gramo} = \frac{100}{\text{Peso en gramos de 100 semillas}}$$

c. Tamaño de semillas

La medición de tamaño de semillas se llevó a cabo en semillas puras, seleccionadas al azar, obtenidas previamente en el análisis de pureza. Se utilizó un vernier metálico para medir 50 cariósides cubiertas por lemma y palea, por cosecha dentro de cada especie evaluada. La medida de cada semilla abarcó desde la base de la gluma inferior hasta el extremo superior de la lemma. Las medidas fueron promediadas y expresadas en milímetros.

### 3.4.2 Características fisiológicas de las semillas

a. Germinación

Método de trabajo

Para el ensayo de germinación se utilizaron 80 semillas puras seleccionadas al azar considerando 4 repeticiones de 20 semillas por momento de cosecha dentro de cada especie evaluada. Las especies trabajadas al ser consideradas ortodoxas, semillas que podrían sobrevivir periodos de desecación o bajas temperaturas durante su exposición en el medio ambiente, recibieron un tratamiento previo a la prueba de germinación. Este tratamiento fue un proceso de enfriamiento donde las semillas, separadas en repeticiones, fueron colocadas dentro de un sustrato (papel toalla humedecido) en cajas de plástico cerradas y sometidas a refrigeración durante 7 días o hasta observar la presencia de la radícula o alguna estructura en crecimiento. Al término del séptimo día sin observar estructura en crecimiento, las semillas fueron llevadas a la cámara climática por espacio de 35 días realizándose la evaluación cada 7 días.



## Sustrato

El sustrato utilizado fue papel toalla, esto debido a que el papel húmedo permite el crecimiento de las raíces de las plántulas sobre y no dentro del papel, además poseen una consistencia suficiente para resistir la manipulación durante el ensayo. Se utilizó agua destilada libre de impurezas orgánicas e inorgánicas con un pH entre 6.0-7.5.

## Cámara climática

Se utilizó una cámara climática con luz y humedad Modelo KBWF 7200 de la marca BINDER. Esta cámara permite simular las condiciones diversas al especificar la temperatura, humedad, circulación de aire y la intensidad de luz.

## Condiciones de ensayo

### – Humedad y aireación

La humedad a la cual se trabajó durante todo el ensayo fue de 70% HR y la aireación fue también de 70% de la capacidad total de la cámara climática. La variación de humedad relativa durante la evaluación no fue mayor a  $\pm 0.5\%$ . Se tuvo mucho cuidado de que los papeles doblados y los rollos estén suficientemente flojos, para así permitir el ingreso y circulación de aire.

### – Temperatura

En vista que ISTA (2006) no presenta protocolos de germinación para las especies evaluadas, *Festuca dolichophylla*, *Festuca humilior* y *Calamagrostis vicunarum*, se utilizaron temperaturas establecidas para las gramíneas *Festuca ovina* y *Festuca heterophylla*. La cámara climática permaneció a 25°C durante 8 horas y 15°C durante 16 horas, este ciclo de 24 horas fue repetido durante 35 días. El cambio de temperatura fue brusco, una hora, este cambio fue necesario ya que estas semillas se caracterizan por poseer latencia. La variación de temperatura tanto a 15°C como a 25°C no fue mayor a  $\pm 0.5^\circ\text{C}$ .

– Luz

Cada ciclo tuvo una duración de 24 horas, durante las 12 primeras horas de cada ciclo se programó para que las lámparas de luz diurna proporcionen 13 000 [lx] y las 12 horas restantes las lámparas permanecieron apagadas.

Monitoreo del desarrollo de plántulas

Según los parámetros establecidos por ISTA (2006), la evaluación de plántulas en germinación de las especies de *Festuca ovina* y *Festuca heterophylla* se llevan a cabo a los 7 y 21 días, sin embargo, por fines de investigación se realizaron evaluaciones cada 7 días hasta llegar a los 35 días de acuerdo con los principios que se detallan a continuación:

– Plántulas normales

- Plántulas que mostraron una raíz primaria larga y delgada generalmente cubierta con pelos radicales, un tallo bien desarrollado, un coleóptilo bien desarrollado y recto conteniendo una hoja verde que se extiende hasta la punta finalmente saliendo a través del mismo.
- Aquellas plántulas con daños limitados en la raíz primaria o ligero retraso en el crecimiento, coleóptilo con daños limitados o con ligeros defectos, hoja con ligeros defectos o emergiendo al menos en la mitad superior del coleóptilo.
- Plántulas con características anteriormente descritas pero que han sido afectadas por hongos o bacterias. Estas plántulas afectadas fueron consideradas puras siempre y cuando sea evidente que la semilla no sea la fuente de la infección.

– Plántulas anormales

- Plántulas dañadas que carecen de cualquiera de las estructuras esenciales o están muy dañadas donde no se puede esperar un desarrollo equilibrado.
- Plántulas deformadas con desarrollo débil o alteraciones fisiológicas, o bien en las que las estructuras esenciales están desproporcionadas.
- Plántulas con cualquiera de sus estructuras esenciales enfermas o podridas como resultado de una infección primaria.

- Plántulas con raíz defectuosa: raquílica, atrofiada o ausente, rota, hendida desde el extremo, con geotropismo negativo y vítrea.
  - Plántulas con un coleóptilo: deforme debido a efectos fitotóxicos, roto, ausente, con la punta dañada o ausente, formando un lazo o espiral, retorcido y fuertemente curvado, hendido en más de un tercio de su longitud a partir del extremo y hendido en la base.
  - Plántulas con hoja: extendida menos de la mitad de la longitud del coleóptilo o ausente; fragmentada o presente con alguna malformación.
- Semillas no germinadas

Las semillas que al final del ensayo no lograron germinar fueron clasificadas como:

- Semillas duras: Semillas que permanecieron duras al final del periodo de ensayo debido a que no absorbieron agua bajo las condiciones establecidas.
- Semillas frescas: Son aquellas que no germinaron bajo las condiciones de ensayo, pero que permanecieron firmes y mostraron el potencial para desarrollarse en una plántula normal. Algunas de estas semillas se embebieron de agua bajo las condiciones establecidas pero el proceso de germinación estuvo bloqueado.
- Semillas muertas: Aquellas semillas diferentes a las frescas o duras que al final del ensayo no produjeron ninguna estructura de una plántula. Estas semillas se encontraron decoloradas, blandas y enmohecidas.
- Otras categorías: Se encontraron también semillas vacías que solo presentaron tejido residual; semillas con endospermo fresco en el cual aparentemente no había cavidad embrional.

Los resultados del ensayo fueron expresados como porcentaje en número de plántulas normales. Se promedió el porcentaje obtenido de las 4 repeticiones por momento de cosecha dentro de cada especie evaluada redondeando al número entero más cercano. Se calculó el número entero para el resto de porcentajes: plántulas anormales, semillas duras, frescas y muertas; se sumó el porcentaje de plántulas normales, anormales y semillas no germinadas las que conformaban el 100%.

b. Viabilidad

Método de trabajo

La Association of Official Seed Analysts (AOSA, 2017) en relación a la prueba de tetrazolio con semillas pertenecientes a familia Poaceae plantea tres métodos de preparación y tinción (Tabla 1).

**Tabla 1.** Métodos de preparación y tinción.

MÉTODOS	CONC TZ (%)	TIEMPO (h)	TEMP (°C)
Corte lateral ligeramente por encima del embrión o lateralmente debajo del embrión.	1.0	4 - 6	20 - 35
Perforación con una aguja en el área central del endosperma	1.0	4 - 6	20 - 35
Corte longitudinal, reteniendo la mitad para la tinción o dejar la semilla intacta en el extremo distal.	0.1	4 - 6	20 - 35

**Fuente: Tetrazolium testing handbook (AOSA, 2017)**

De acuerdo a lo propuesto por AOSA (2017), se realizaron evaluaciones preliminares, con una muestra de semillas cosechadas, utilizando concentraciones de 0.1%, 0.5% y 1% de solución cloruro 2,3,5-trifenil tetrazolio realizando cortes longitudinales, diagonales y trasversales para observar que método sería el más indicado para las especies en evaluación. Tras las pruebas preliminares se observó que la concentración indicada para llevar a cabo la prueba de viabilidad sería 0.1% y el tipo de corte sería uno lateral cercano al embrión ya que permitió la tinción de semillas viables.

Se utilizó 4 repeticiones de 10 semillas puras tomadas al azar correspondientes a cada momento de cosecha dentro de cada especie evaluada. Al ser semillas pequeñas y delicadas no se llevó a cabo un pre acondicionamiento ya que esto dificultaría al momento del corte. Se realizó un corte lateral cercano al embrión de cada semilla con el propósito de exponer los tejidos y así permitir el ingreso de la solución de tetrazolio. Dentro de bandejas acondicionadas a partir de pastilleros múltiples con divisiones se embebió cada semilla en 30 gotas de una

solución al 0.1% de cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio, posteriormente estas bandejas fueron introducidas dentro de una estufa a 30°C por un tiempo de 16 horas. Al finalizar el periodo dentro de la estufa, las bandejas fueron retiradas, las semillas lavadas individualmente con agua destilada para luego ser evaluadas con ayuda de un estereoscopio.

#### Fundamento de la tinción con tetrazolio

En los tejidos de la semilla, el indicador (cloruro 2,3,5-trifenil tetrazolio) interactúa con los procesos de reducción de las células vivas captando hidrógeno liberado por estas células gracias a las hidrogenasas. El 2,3,5-trifenil tetrazolio por hidrogenación genera en las células vivas una sustancia roja, estable y no difusible, el trifenil formazán. Esto permite diferenciar entre las partes vivas de la semilla que se colorean de rojo y las partes muertas que no son coloreadas (Ruiz, 2009).

#### Evaluación de la prueba de viabilidad

Para la evaluación se utilizó un microscopio estéreo de marca ACCU SCOPE modelo 3075 incorporada con una cámara digital marca ACCU SCOPE modelo AU-600HDS que permitió observar las estructuras detalladamente, además de tomar fotografías en alta resolución. Se consideraron no viables a aquellas semillas que mostraron un embrión completamente no coloreado, aquellas que tenían la mitad superior y la inferior del embrión sin color y las que tenían el embrión de color rosa muy débil. Semillas viables fueron aquellas semillas que mostraron el embrión de una coloración entre rojo oscuro y rosado intenso.

Al terminar el ensayo, se calculó el número de semillas consideradas como viables y no viables en cada repetición. Se expresaron los resultados en porcentaje promediados redondeando al número entero más próximo y en caso de igualdad, a favor del número de semillas viables.

### 3.5 Diseño y análisis estadístico

El diseño estadístico utilizado fue un Completamente al Azar con arreglo factorial 3x3. Tres especies: *Calamagrostis vicunarum*, *Festuca humilior* y *Festuca dolichophylla* y tres momentos de cosecha: 21 días post floración (primer momento de cosecha), 28 días post floración (segundo momento de cosecha) y 35 días (tercer momento de cosecha). Para el análisis de varianza se utilizó el programa estadístico SAS (Statistical Analysis System) versión 9.4 y para separar promedios la prueba DLS.

Para la evaluación de los parámetros de pureza, germinación y viabilidad se estableció el siguiente modelo aditivo lineal:

$$Y_{ijk} = \mu + s_i + m_j + (s*m)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

**Donde:**

$Y_{ijk}$  = Variable respuesta

$\mu$  = Efecto de la media general.

$s_i$  = Efecto del i-ésima especie (i=1,2,3)

$m_j$  = Efecto de la j-ésimo momento de cosecha (j=1,2,3)

$(s*m)_{ij}$  = Efecto de la interacción de la i-ésima especie con el j-ésimo momento de cosecha.

$\varepsilon_{ijk}$  = Error experimental.

Para el análisis de peso y tamaño de las semillas se utilizó estadística descriptiva

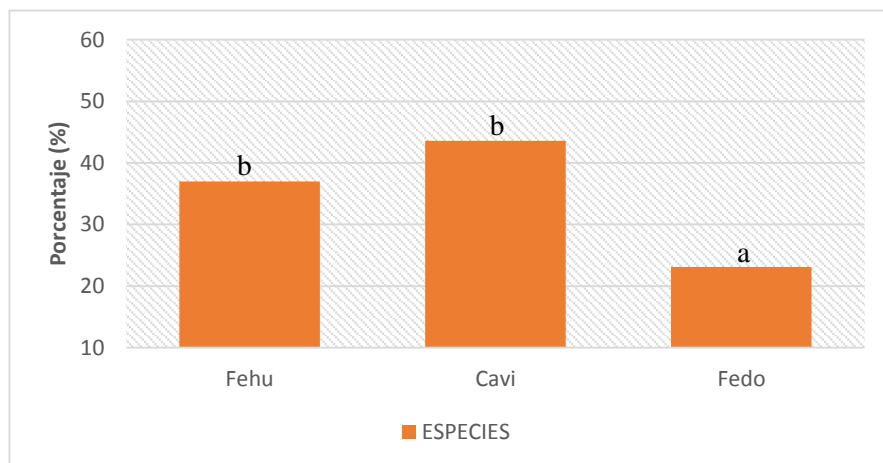
## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Momento óptimo de cosecha

#### 4.1.1 Características físicas de las semillas.

##### a. Pureza

El análisis estadístico muestra que existe una diferencia altamente significativa ( $p < 0.001$ ) entre las especies evaluadas respecto a la variable porcentaje de pureza. Los resultados (Figura 4) muestran que *Calamagrostis vicunarum* (Cavi) es la especie con mayor porcentaje de pureza (43.6%) seguido por *Festuca humilior* (37%) y con el menor porcentaje de pureza *Festuca dolichophylla* (23.1%). Esta superioridad de *Calamagrostis vicunarum* puede deberse a que en el proceso de maduración de la semilla estas no son tempranamente dispersadas como si se ha observado en el caso de *Festuca dolichophylla* y *Festuca humilior*. Adicionalmente, se ha observado que en *Calamagrostis vicunarum* el paso de floración a madurez toma menos tiempo que en las otras especies aun cuando no atraviesan situación de sequía (Horton *et al.*, 1990) y la diseminación de semillas es más lenta y sólo ocurre cuando estas semillas ya están maduras. En la actualidad un lote de semillas de especies forrajeras ya sea leguminosas o gramíneas, necesitan un porcentaje mínimo de pureza para ser comercializadas, este porcentaje varía de acuerdo a cada especie y está en función de las normas generales de la producción y comercio de semillas de cada país.



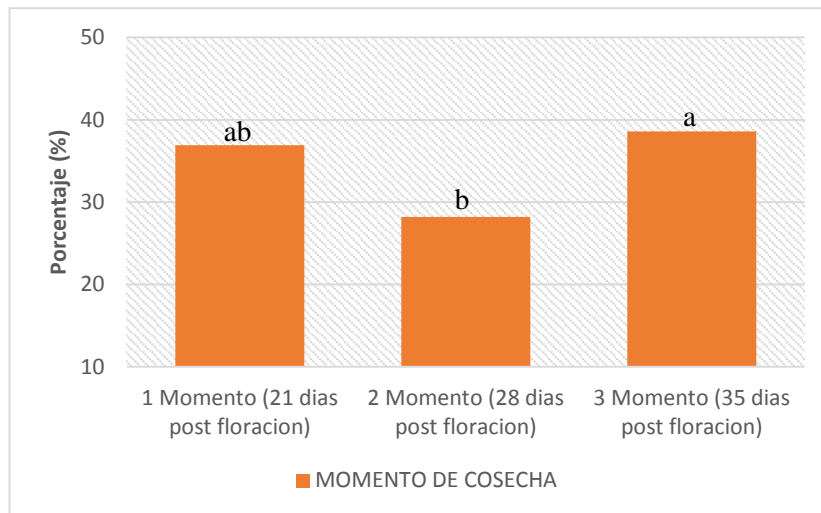
**Figura 4.** Porcentaje de pureza de *Festuca humilior*, *Festuca dolichophylla* y *Calamagrostis vicunarum*



**Figura 5.** *Calamagrostis vicunarum* componente de semilla pura (izquierda) y materia inerte (derecha).

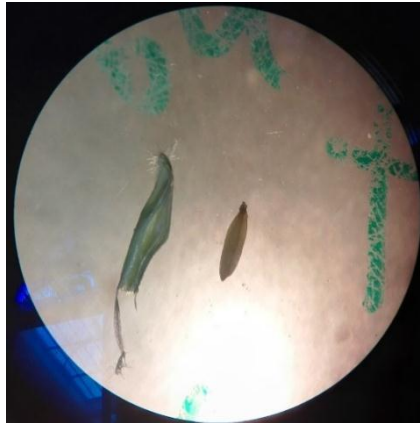
Respecto a los momentos de cosecha los cuales pueden ser observados en la Figura 6, el análisis estadístico muestra que si existe una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) donde el tercer momento de cosecha muestra el mayor porcentaje de pureza, seguido del primer momento de cosecha y por último el segundo momento. Estos resultados aparentemente están siendo influenciados por el alto porcentaje de pureza de *Calamagrostis vicunarum*, pues esta especie en el tercer momento de cosecha posee más de 50% de semillas puras, valor que es considerablemente alto.





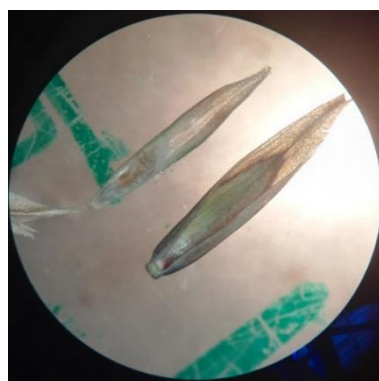
**Figura 6.** Porcentaje de pureza en tres momentos de cosecha.

La Figura 10 muestra el comportamiento de la pureza de las tres especies evaluadas en relación a los momentos de cosecha. Se observa que las especies muestran un patrón en el porcentaje de pureza en el cual el mayor porcentaje es alcanzado en la tercera cosecha, sin embargo, las especies muestran un descenso en la segunda cosecha, esto nos indicaría que no sería el momento óptimo donde debería realizarse la cosecha. El mayor porcentaje de pureza en *Festuca dolichophylla* fue observado en el tercer momento de cosecha (25.9%), sin embargo, este, solo es ligeramente superior al obtenido en la primera (25.3%). Los resultados de la evaluación en semillas de *Festuca humilior* muestran un comportamiento semejante al de *Festuca dolichophylla*. El primer momento de cosecha presenta mayor porcentaje de pureza (44.7%) seguido del tercer momento de cosecha (37.5%), es probable que este comportamiento se deba a que en el primer momento de cosecha la inflorescencia se encontraba entera y no había dispersado aun las semillas, en el segundo momento de cosecha hay una mayor proporción de materia inerte, glumas secas y desprendidas, esto probablemente como consecuencia de la dispersión de semillas. Esta especie, comparada con las otras especies evaluadas, posee un menor número de espiguillas por inflorescencia y por tanto una mayor probabilidad de tener un menor número de semillas por inflorescencia.

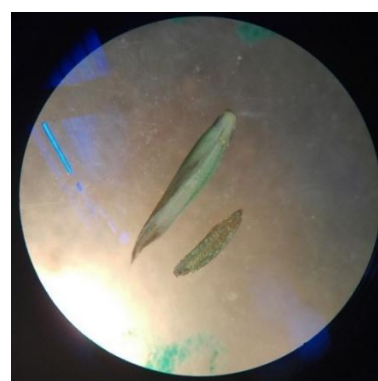


**Figura 7.** Semilla pura de *Calamagrostis vicunarum*.

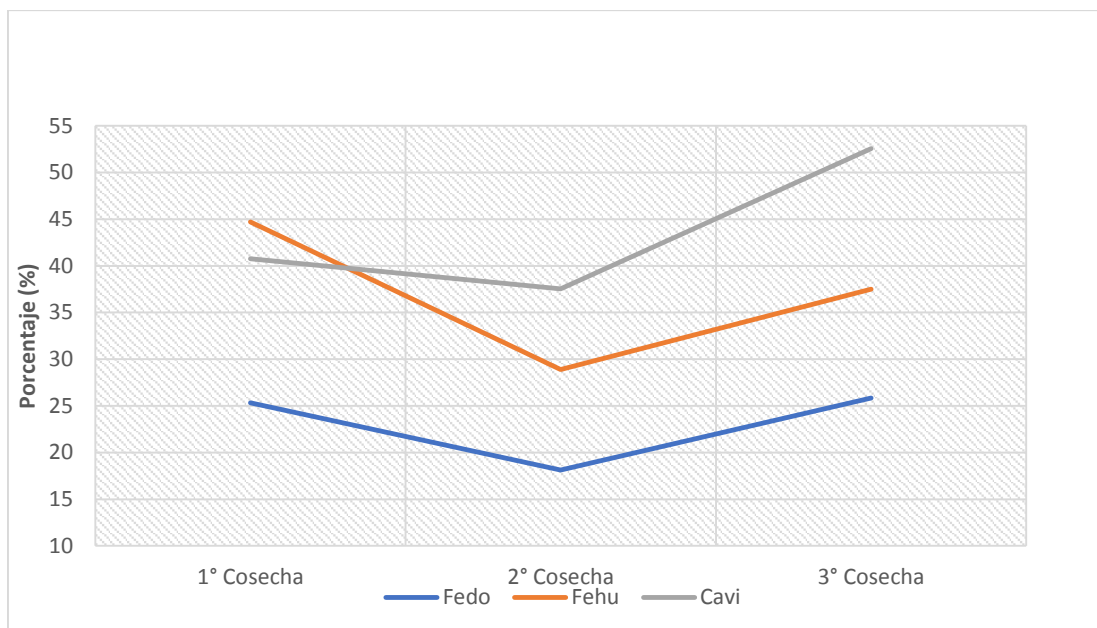
El porcentaje de semilla pura en *Calamagrostis vicunarum* muestra que existe una disminución entre el primer (40.8%) y segundo momento (37.5%), pero un incremento significativo entre la segundo y tercer momento de cosecha (52.6%) siendo esta ultima el momento de cosecha donde se obtuvo mayor porcentaje de pureza. En el tercer momento de cosecha la materia inerte estaba conformada por una mayor proporción de espiguillas vacías, lemma y palea; estas al encontrarse secas mostraron un menor peso comparado con las cariósides maduras y bien formadas que conformaban la semilla pura. Esta especie pese a tener cariósides más pequeñas, tiene una madurez más uniforme y acelerada ya que desde el primer momento de cosecha se observa un buen porcentaje de semilla pura donde las cariósides no son desprendidos hasta el final de la madurez.



**Figura 8.** Semilla pura de *Festuca dolichophylla*.



**Figura 9.** Semilla pura de *Festuca humilior* mostrando la cariósida mayor a 1/3 de la pálea



**Figura 8.** Porcentaje de pureza de *Festuca humilior*, *Festuca dolichophylla* y *Calamagrostis vicunarum* en tres momentos de cosecha

Durante el análisis de pureza en las tres especies evaluadas, solo se encontraron como componentes a semilla pura y materia inerte, esto debido a que la unidad de muestra correspondía a la inflorescencia que había sido cortada y embolsada lo que evito la contaminación de la inflorescencia. Las especies evaluadas poseen semillas pequeñas lo cual dificulta el manipuleo en los análisis, además es necesario tener experiencia para poder diferenciar en un estereoscopio las anteras de la cariósipide. La Tabla 2 muestra que la especie con mayor porcentaje de pureza viene a ser *Calamagrostis vicunarum* y es en el tercer momento de cosecha donde se obtiene el mayor número de semillas puras. El mayor porcentaje de pureza obtenido durante toda la evaluación fue 52.55% correspondiente a *Calamagrostis vicunarum*, este resultado nos lleva a pensar que si se desea utilizar a esta especie en un futuro programa de recuperación o rehabilitación de pastizales mediante semilla vegetativa, aún existe mucho por trabajar pues hay una enorme diferencia entre los resultados obtenidos durante la evaluación y el porcentaje necesario para que estas puedan ser comercializadas como lo son las semillas de *Festuca arundinacea* Schreb, especie cultivada que necesita 95% de pureza como mínimo (INASE, 2018).

**Tabla 2:** Pureza obtenida de las tres especies evaluadas en los tres momentos de cosecha

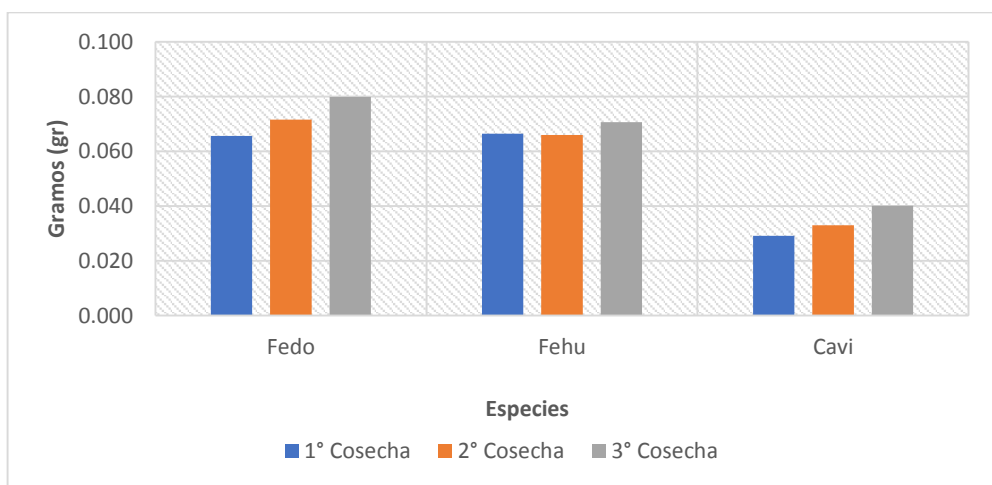
Especie	Momento de cosecha			Promedio
	Primer momento	Segundo momento	Tercer momento	
<i>Festuca dolichophylla</i>	25.32 +/- 11.51	18.14 +/-8.98	25.85 +/-18.66	23.10
<i>Festuca humilior</i>	44.72 +/-16.58	28.91 +/-16.97	37.5 +/-20.38	37.04
<i>Calamagrostis vicunarum</i>	40.76 +/- 19.32	37.53 +/- 18.57	52.55 +/-26.30	43.61
<b>Promedio</b>	36.93	28.19	38.63	34.59

Se observa que en el segundo momento de cosecha se obtiene el menor porcentaje de pureza en las tres especies evaluadas, probablemente esto se deba a la mayor presencia de humedad, pues se sabe por experiencia y trabajo en campo que estas especies no son tolerantes al elevado contenido de humedad en el suelo y tienden a destinar el mayor contenido de nutrientes a la formación y desarrollo de semillas provocando una aparente maduración forzada en las inflorescencias. Cada inflorescencia posee gran cantidad de semillas, estos al ser sometidos a un exceso de humedad en el suelo provoca que las anteras caigan y las espiguillas cambien de coloración. Este suceso aparentemente ocasiona que tengamos semillas maduras en menor tiempo, sin embargo, al realizar las evaluaciones en el estereoscopio solo se observa glumas sin cariósido alguno obteniendo así un menor porcentaje de pureza. Este comportamiento se observa sobre todo en *Festuca dolichophylla*. Esta especie posee semillas más grandes sin embargo al ser sometidos a un exceso de humedad no terminan de desarrollarse, pues no hay una adecuada acumulación de carbohidratos y hay una formación incompleta de la cariósido. Todo esto conlleva a que las semillas colectadas posean mayor contenido de glumas o materia inerte y como consecuencia menor porcentaje de pureza.

El tipo de suelo también juega un rol muy importante pues el desarrollo tanto de la planta madre como de las semillas puede ser limitada por su entorno como: profundidad de suelo, textura, nutrientes, nitrógeno, salinidad, características propias de la especie, entre otras. García (2016) reportó que añadiendo nitrógeno y fósforo al inicio de la siembra de esquejes en suelos franco limosos se obtiene un mayor porcentaje de macollos reproductivos y macollos vegetativos comparado con suelos franco arcillosos que recibieron encalado y N+P+encalado.

b. Peso de 100 semillas

Durante la maduración, conforme pasaron los días el contenido de humedad dentro de la semilla fue disminuyendo paulatinamente de tal manera que las semillas maduras tuvieron mayor peso, contrario a lo que se observa en gramíneas cultivadas donde las semillas secas tienen menor peso que las semillas frescas. Probablemente esto se deba a la mayor acumulación de carbohidratos como sustancia de reserva además de mayor presencia de ácido abscísico el cual es responsable de que la semilla no pase directamente de la embriogénesis a la germinación (Matilla, 2008). Este comportamiento se puede observar en la Figura 11, donde el peso de 100 semillas incrementa conforme avanza la época de cosecha. En el primer momento *Festuca humilior* es la especie que presenta mayor peso de 100 semillas (0.066 gr), en el segundo al igual que en el tercer momento de cosecha es *Festuca dolichophylla* la que presenta mayor peso con 0.072gr y 0.080gr respectivamente (Figura 11). Las semillas cosechadas fueron pequeñas donde tanto la lemma y la palea, tejidos que cubrieron a la cariósida, fueron muy delgados lo que conllevó a que durante la madurez no haya mucha variación en el peso de estos tejidos ya sea estando frescos en el primer momento o estando secos en el tercer momento de cosecha. Si bien es cierto que por especie no existe una diferencia marcada entre los pesos obtenidos en los diferentes momentos de cosecha, esto no conlleva a pensar que al ser evaluados tendrán el mismo porcentaje de germinación o viabilidad pues en una muestra, las semillas grandes suelen tener mayor contenido de reservas nutricionales comparado con aquellas semillas pequeñas del mismo peso específico (Goor y Barney, 1976).



**Figura 9.** Peso de 100 semillas de *Festuca dolichophylla*, *Festuca humilior* y *Calamagrostis vicunarum* a través de los tres momentos de cosecha.

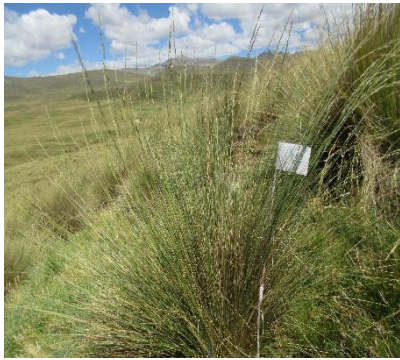
Las especies *Festuca dolichophylla* y *Festuca humilior* son especies de porte alto que en su etapa reproductiva posee gran número de macollos reproductivos por matojo, estos macollos reproductivos contienen inflorescencias con semillas grandes comparadas a las semillas de *Calamagrostis vicunarum* que son muy difíciles de manipular. Al comparar el tamaño de semillas entre especies podemos asumir que las semillas de *Festuca dolichophylla* o *Festuca humilior* tendrán mayor porcentaje de germinación que las semillas de *Calamagrostis vicunarum* por ser más grandes o poseer mayor contenido de nutrientes, sin embargo, las semillas pequeñas tienen la ventaja de poder ser dispersadas por el viento, agua o herbívoros con mayor facilidad lo cual favorece hallar espacios adecuados para su establecimiento (Willson *et al.*, 1990). En función al peso de 100 semillas se pudo estimar el número de semillas por gramo (Tabla 3).

**Tabla 3:** Número de semillas por gramo de *Festuca humilior*, *Festuca dolichophylla* y *Calamagrostis vicunarum* en tres momentos de cosecha.

	Número de semillas por gramo		
	1° Momento	2° Momento	3° Momento
<i>Festuca dolichophylla</i>	1 523	1 397	1 251
<i>Festuca humilior</i>	1 506	1 515	1 414
<i>Calamagrostis vicunarum</i>	3 436	3 034	2 489

El número de semillas por gramo observado podría ser utilizado como referencia para hallar el potencial de producción de las inflorescencias, sin embargo, esto debe complementarse con las pruebas de germinación y viabilidad. En la Tabla 3 se observa que mientras más grande sea la semilla, hay menor número de semillas por gramo, sin embargo, como se mencionó anteriormente, ello no determina el éxito de la especie durante el establecimiento. Aquí es importante la formación del banco de semillas, pues muchas de las semillas producidas germinarán el mismo año de haber sido diseminadas u otras permanecerán enterradas perdiendo su viabilidad o hasta entrar en un ambiente favorable que propicie la reiniciación del crecimiento del embrión (Fenner, 1995).

c. Tamaño de semillas



**Figura 10.** *Festuca dolichophylla* 44.9 cm de altura en promedio.



**Figura 11.** *Calamagrostis vicunarum* 22.3 cm de altura en promedio.

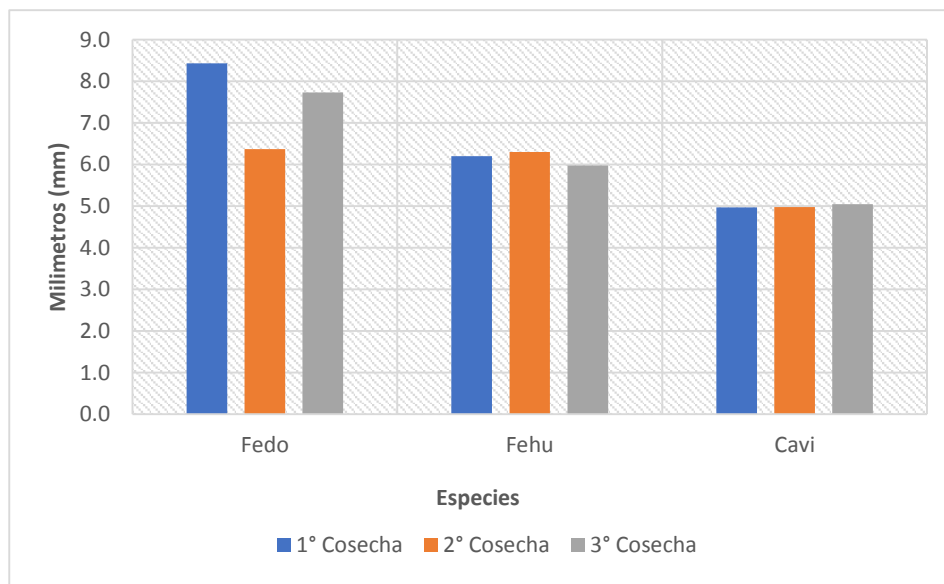


**Figura 12.** *Festuca humilior* 34.2 cm de altura en promedio

El tamaño de semillas que poseen las especies evaluadas está muy relacionada al tamaño de las plantas. *Festuca dolichophylla* fue la especie de mayor porte (44 cm de alto, 50 cm de diámetro mayor, 17.3 cm de diámetro menor y un volumen de 0.18 m<sup>3</sup> en promedio) seguido de *Festuca humilior* (34.2 cm de alto, 35.8 cm de diámetro mayor, 18.9 cm de diámetro menor y un volumen de 0.10 m<sup>3</sup> en promedio) y *Calamagrostis vicunarum* (22 cm de alto, 13.1 cm de diámetro mayor, 5.9 cm de diámetro menor y un volumen de 0.009 m<sup>3</sup> en promedio), este último es la especie con menor número de macollos reproductivos por planta pues posee 11 en promedio, 27 *Festuca humilior* y 32 *Festuca dolichophylla*.

En la Figura 15 se observa que *Festuca dolichophylla* presenta semillas con mayor tamaño promedio (8.4mm), las que fueron obtenidas en el primer momento de cosecha, *Festuca humilior* en el segundo momento (6.3mm) y *Calamagrostis vicunarum* en el tercer momento cosecha (5.1mm). Estas variaciones entre especies e incluso entre plantas es habitualmente consecuencia de diferencias genéticas y/o micro ambientales (Temme, 1986). El ambiente y la composición genética de cada planta también influyen en su comportamiento reproductivo, si las condiciones no son óptimas para un adecuado desarrollo foliar, las plantas priorizarán su desarrollo reproductivo de tal manera que harán prevalecer su especie, este esfuerzo reproductivo que cada planta efectúe puede tener también una gran influencia sobre el tamaño de la semilla (Vaughton y Ramsey, 1997; Jakobsson y Eriksson, 2000). Todo este conjunto de factores puede verse enmascarados por un efecto fenotípico del tamaño de la planta habida cuenta de que, al menos a nivel interespecífico, se ha encontrado una relación

clara entre el tamaño de la planta y el tamaño de sus semillas (Jakobsson y Eriksson, 2000; Sakai y Harada, 2001). Esto nos lleva a pensar que en ambientes naturales sin fertilización o adición de nutrientes las tres especies evaluadas priorizan la producción y formación de semillas antes que formar una planta vigorosa con mayor área foliar. Esto se ve reflejado en el ambiente, donde en un suelo con elevado contenido de humedad tanto *Festuca humilior* como *Festuca dolichophylla* desarrollan poco número de hojas priorizando el desarrollo de las inflorescencias. Investigaciones realizadas por Tácuna *et al.*, (2015) y García (2016) reportan que los macollos reproductivos obtenidos de *Festuca humilior* son adecuados a utilizar en el proceso de recuperación de pastizales, sin embargo, estos resultados fueron exitosos ya que se añadieron nutrientes orgánicos o inorgánicos como nitrógeno fosforo en diferentes formas disponibles.



**Figura 13.** Tamaño promedio de 50 semillas *Festuca dolichophylla*, *Festuca humilior* y *Calamagrostis vicunarum* a través de los tres momentos de cosecha.



#### 4.1.2 Características fisiológicas de las semillas

##### a. Germinación



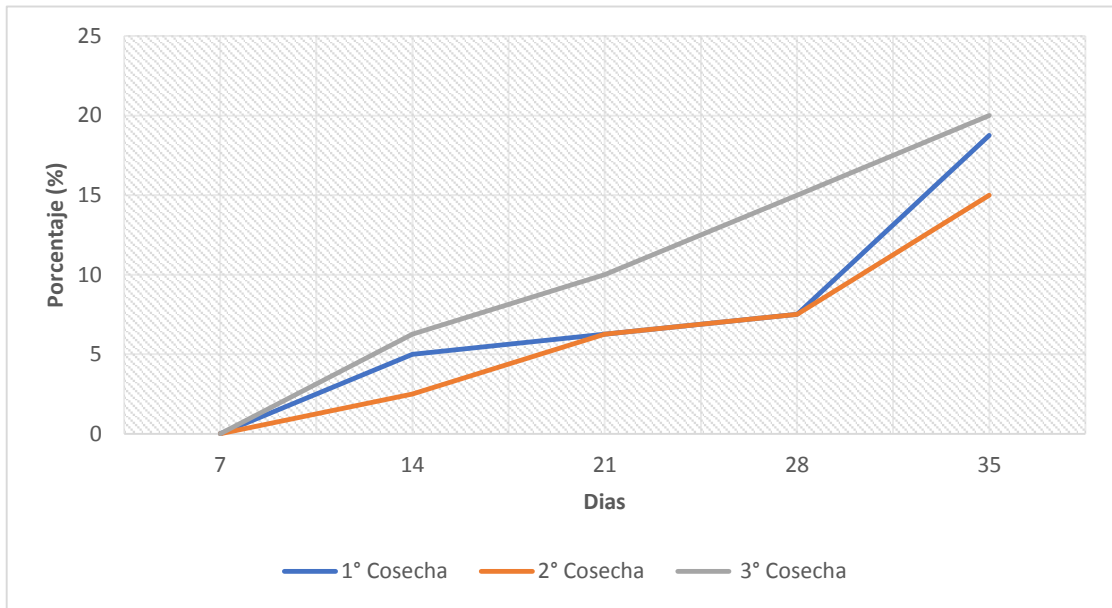
**Figura 14.** Plántulas de *Festuca dolichophylla*.



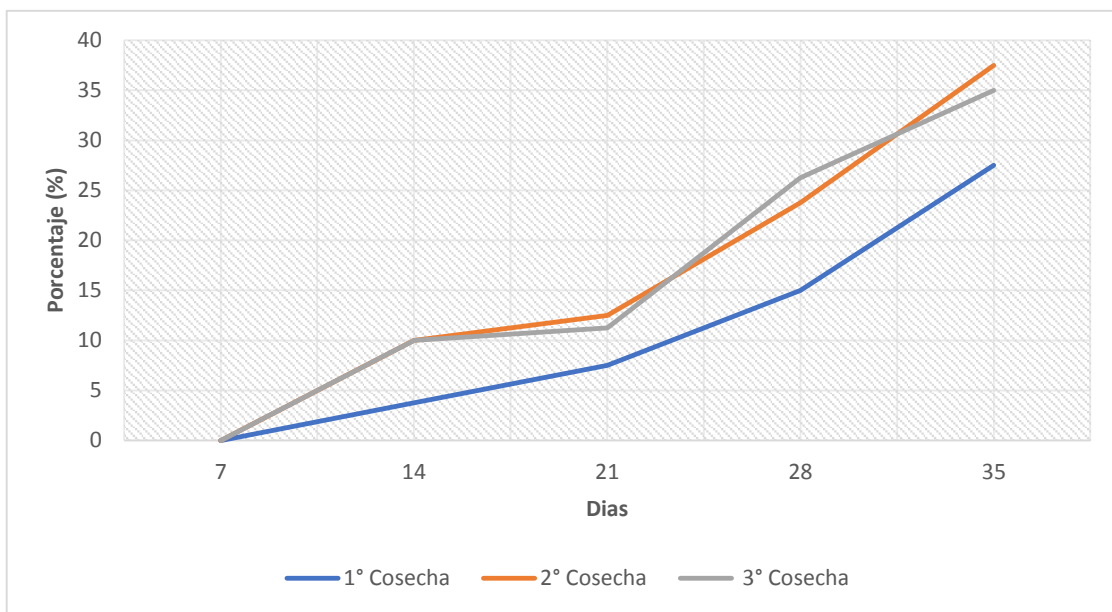
**Figura 15.** Plántulas de *Calamagrostis vicunarum*

En las Figuras 18, 19 y 20 se observa los diferentes porcentajes de germinación acumulados obtenidos durante cada semana hasta llegar a los 35 días, periodo que duró la evaluación. Se observa un patrón de germinación constante en las semillas cosechadas a los 35 días post floración (tercer momento de cosecha), mientras que las cosechas más tempranas muestran fluctuaciones. La Figura 18 muestra que las semillas de *Festuca dolichophylla* obtenidas en el tercer momento de cosecha presentan un mayor porcentaje de germinación (20%) seguido por las semillas obtenidas en el primer momento de cosecha (19%). En el caso de *Festuca humilior*, las semillas obtenidas en el segundo momento (38%) son las que poseen mayor porcentaje de germinación seguido por semillas del tercer momento de cosecha (35%). Respecto a *Calamagrostis vicunarum* son las semillas obtenidas en el primer momento las que obtienen un mayor porcentaje de germinación (33%) seguido por las semillas del tercer momento de cosecha (30%).

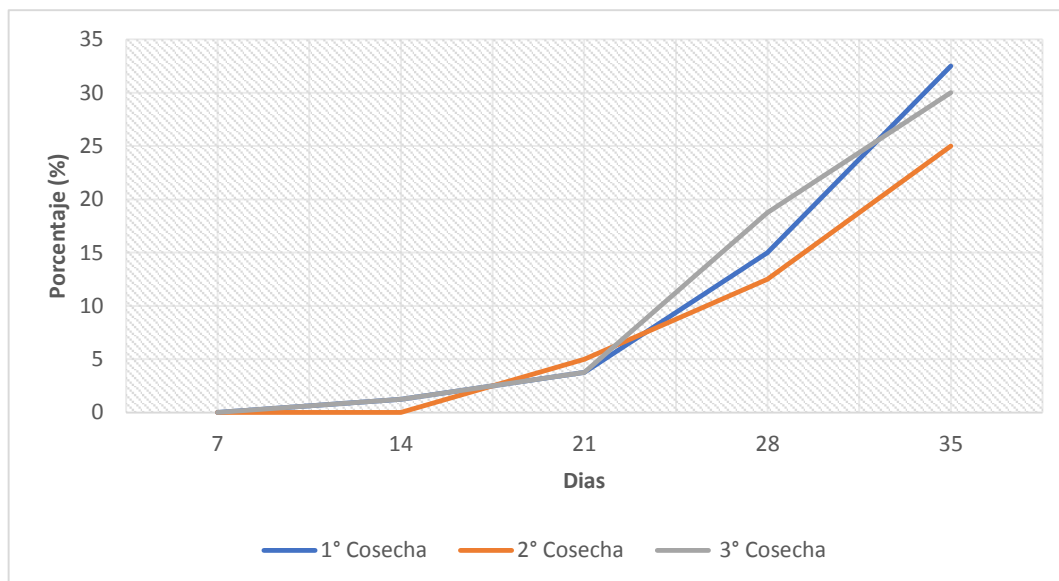
Por fines académicos el ensayo de germinación duró 35 días, sin embargo, si la evaluación hubiese sido solo 28 días, los resultados en las especies evaluadas mostrarían que el momento óptimo de cosecha, para obtener semillas con mayor porcentaje de germinación, sería a los 35 días de haberse iniciado la floración plena.



**Figura 16.** Porcentaje de germinación por semana en *Festuca dolichophylla*.

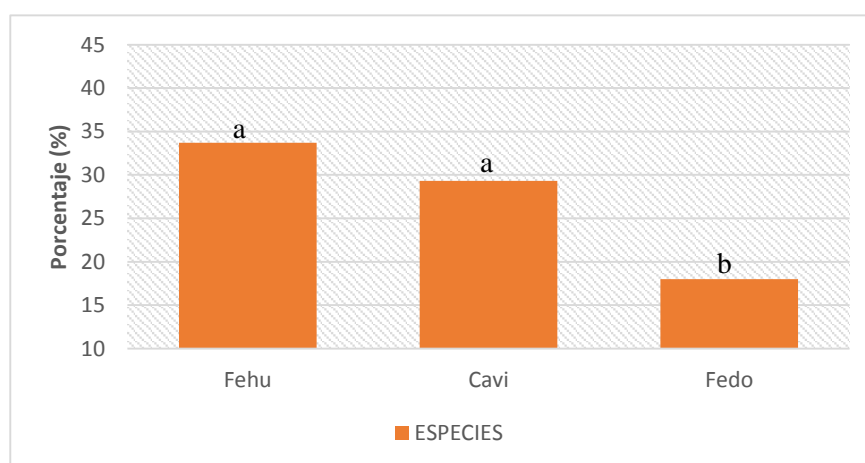


**Figura 17.** Porcentaje de germinación por semana en *Festuca humilior*.



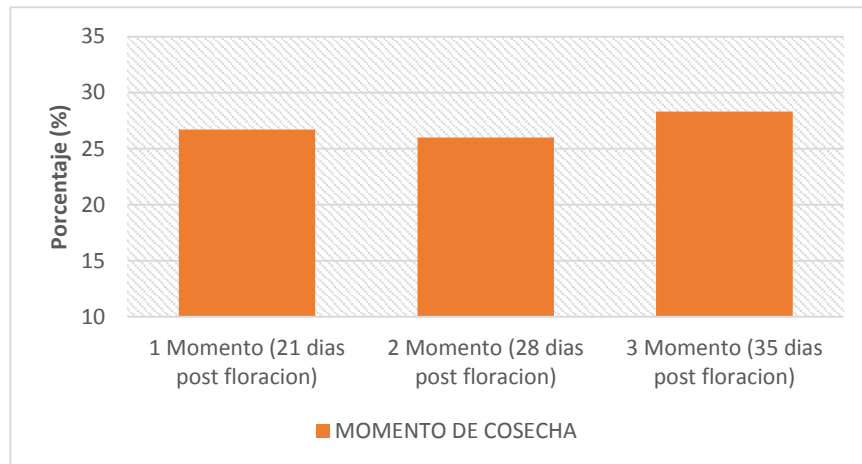
**Figura 18.** Porcentaje de germinación por semana en *Calamagrostis vicunarum*.

Los resultados del análisis del factor principal de especies (Figura 21) muestran que existe una diferencia altamente significativa ( $p < 0.001$ ) respecto al porcentaje de germinación entre las especies evaluadas. En la Figura 21 se observa que *Festuca humilior* es la especie con mayor porcentaje de germinación (33.7%) seguido por *Calamagrostis vicunarum* (29.3 %) y *Festuca dolichophylla* (18%). Si bien es cierto que no existe una diferencia estadística entre *Festuca humilior* y *Calamagrostis vicunarum*, si existe una tendencia que favorece a *Festuca humilior*. Esta observación puede ser utilizada como una referencia al momento de elegir la especie a utilizar en un proceso de recuperación de pastizales a partir de semilla botánica.



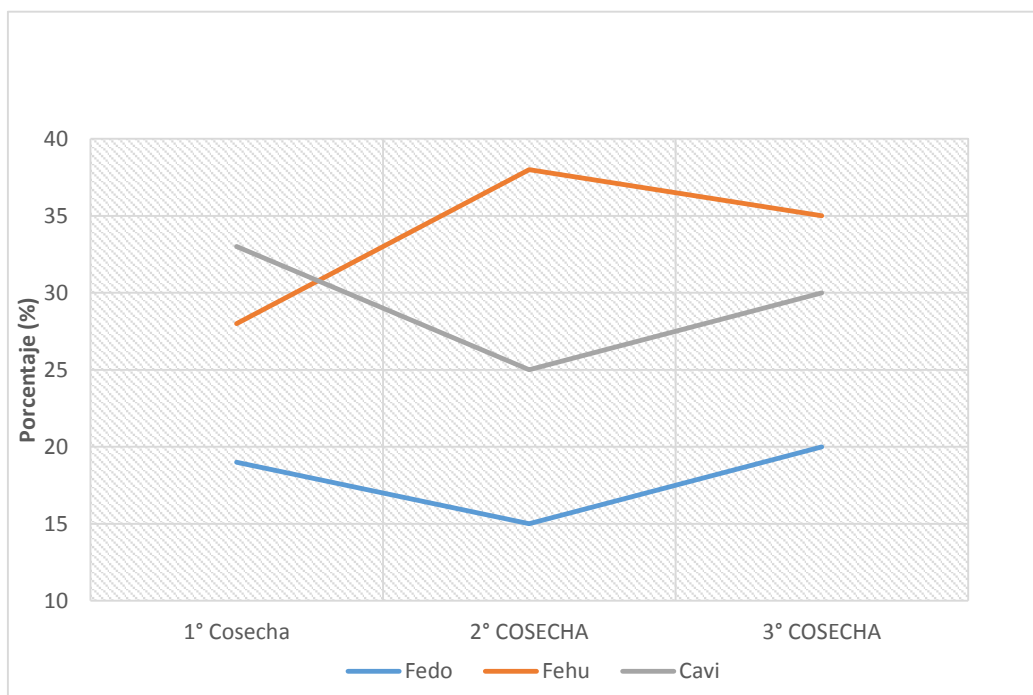
**Figura 19.** Porcentaje de germinación obtenida en función de *Festuca humilior*, *Festuca dolichophylla* y *Calamagrostis vicunarum*.

Respecto al momento de cosecha, se observa en el análisis estadístico que no existe diferencia ( $p > 0.05$ ) entre los diferentes momentos de cosecha, sin embargo, si existe una ligera tendencia que podría favorecer al tercer momento de cosecha. La Figura 22 muestra los porcentajes de germinación en los diferentes momentos de cosecha: primer momento (26.7%), el segundo momento (26%) y el tercer momento de cosecha (28.3%).



**Figura 20.** Porcentaje de germinación en los tres momentos de cosecha.

El comportamiento de la germinación en las tres especies a través de los momentos de cosecha ( $p > 0.05$ ) muestra que la maduración de las semillas no es constante ni tiene un patrón determinado como sí sucede en especies cultivadas. Si bien es cierto que tras la evaluación no se observa un mismo momento de cosecha donde se obtenga el mayor porcentaje de germinación para las tres especies evaluadas, sí se puede observar que *Festuca dolichophylla* alcanza mejor porcentaje de germinación en semillas cosechadas a los 35 días, mientras que *Festuca humilior* lo hace en semillas cosechadas a los 28 días y *Calamagrostis vicunarum* muestra el mejor porcentaje de germinación con semillas cosechadas a los 21 días post floración (Figura 23). El caso de *Calamagrostis vicunarum* sigue siendo sorprendente pues las semillas más maduras y con mejor porcentaje de germinación se presentan en el primer momento de cosecha; como se mencionó anteriormente, esto probablemente se deba a que las semillas de *Calamagrostis vicunarum* tienen una rápida formación y maduración de semilla a lo cual se añade una lenta diseminación lo que permite que el porcentaje de germinación no oscile mucho durante los diferentes momentos de cosecha. Por tanto, en donde haya predominancia de las especies evaluadas sería adecuado tomar en cuenta la diferencia en sus comportamientos de germinación y momento de cosecha.



**Figura 21.** Porcentaje de germinación acumulada de *Festuca humilior*, *Festuca dolichophylla* y *Calamagrostis vicunarum* en tres momentos de cosecha.

**Tabla 4:** Germinación obtenida en las tres especies evaluadas en los tres momentos de cosecha

Especie	Momento de cosecha			Promedio
	Primer momento	Segundo momento	Tercer momento	
<i>Festuca dolichophylla</i>	19+/-10.30	15+/-9.13	20+/-7.07	18
<i>Festuca humilior</i>	28+/-1.29	38+/-8.66	35+/-10.80	33.67
<i>Calamagrostis Vicunarum</i>	33+/-8.66	25+/-0.00	30+/-7.07	29.3
<b>Promedio</b>	26.67	26	28.3	27

b. Viabilidad



**Figura 22.** Semilla viable de *Festuca humilior*



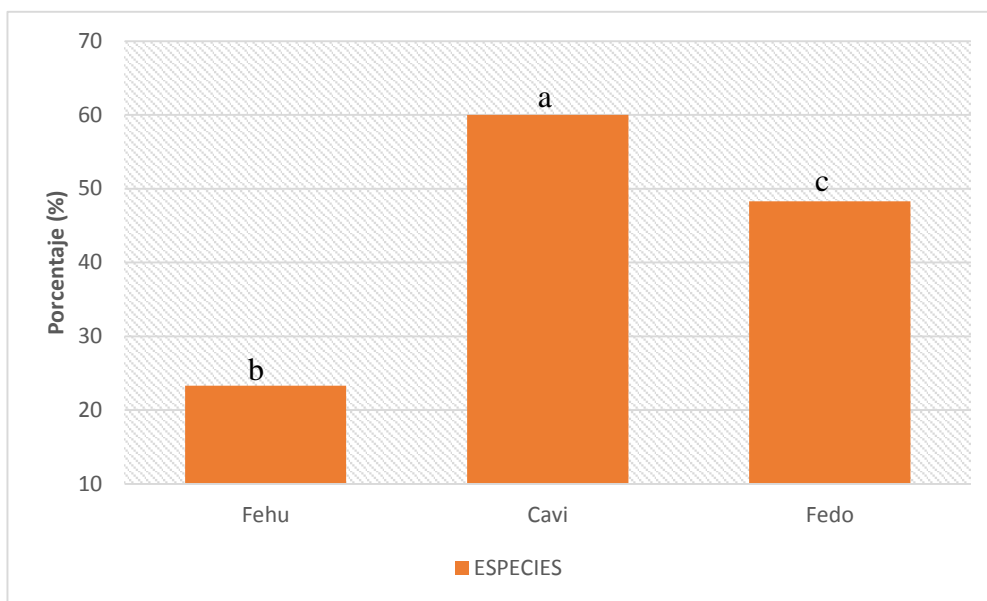
**Figura 23.** Semilla viable de *Festuca dolichophylla*



**Figura 24.** Semilla viable de *Calamagrostis vicunarum*.

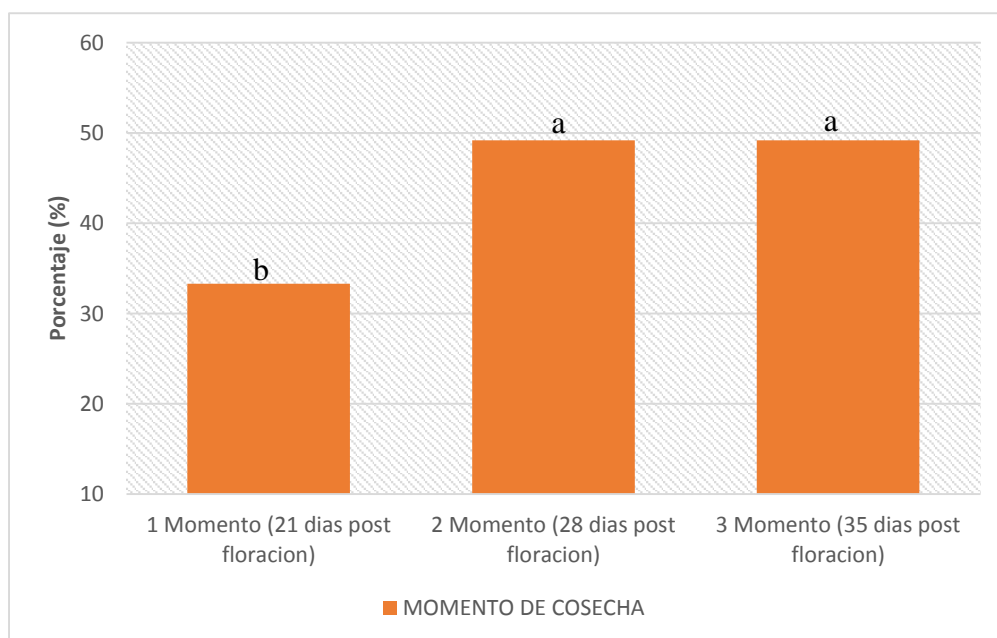
El ensayo topográfico con tetrazolio permitió identificar semillas vivas y semillas muertas. Al momento de la tinción, las coloraciones de las partes viables oscilaron entre un color rosado claro a rojo carmín, esto se debió a que al ser expuesto el embrión a la solución 2,3,5-trifenil se llevó a cabo el principio básico de esta prueba el cual está basado en el fenómeno universal de respiración celular (Craviotto *et al.*, 1991).

El análisis estadístico muestra que si existe una diferencia altamente significativa ( $p < 0.001$ ) entre los porcentajes de viabilidad obtenido por las diferentes especies evaluadas. En la Figura 27 se observa que *Calamagrostis vicunarum* presenta el mayor porcentaje de viabilidad (60%) seguido por *Festuca dolichophylla* (48.3%) y *Festuca humilior* (23.3%). Estos resultados corroboran lo observado en el campo durante el periodo de evaluación, que *Calamagrostis vicunarum* es una especie que además de madurar de manera uniforme en la inflorescencia, la planta madre no disemina las semillas sino hasta que estas estén maduras o contengan la cantidad de reservas energéticas suficientes para poder establecerse.



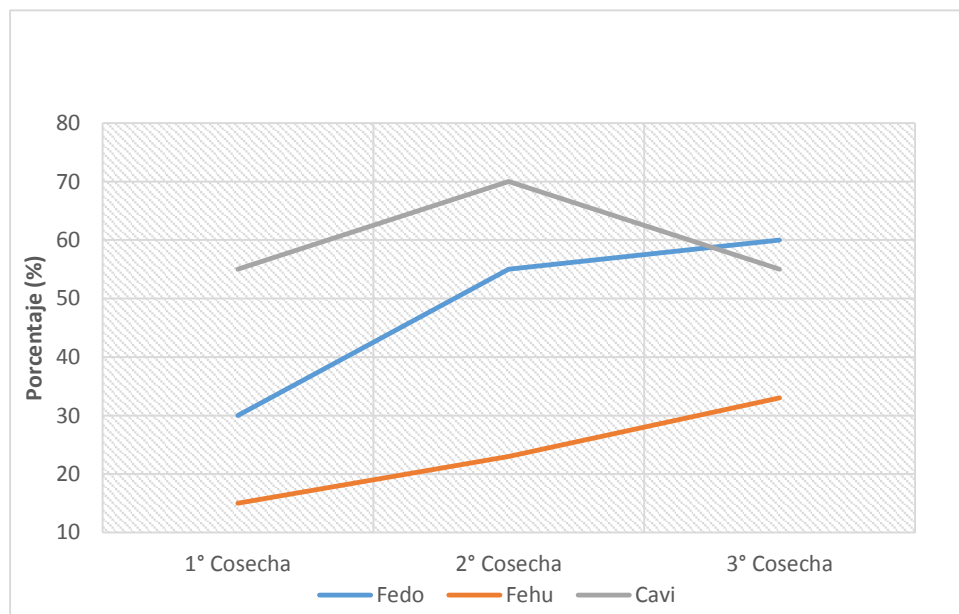
**Figura 25.** Porcentaje de viabilidad obtenida en función de *Festuca humilior*, *Festuca dolichophylla* y *Calamagrostis vicunarum*.

El análisis estadístico de viabilidad respecto a los momentos de cosecha muestra que si existe una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) de la viabilidad de las semillas cosechadas a los 28 y 35 (49.2%) días post floración en comparación con a las cosechadas a los 21 días (33.3%) (Figura 28).



**Figura 26.** Porcentaje de viabilidad obtenida en función de los momentos de cosecha.

Los patrones de viabilidad de las tres especies en los tres momentos de cosecha se muestran en la Figura 29, donde se observa que tanto en *Festuca dolichophylla* como en *Festuca humilior* la prueba de tetrazolio mostró que las semillas cosechadas en el tercer momento alcanzan el mayor porcentaje de viabilidad, (60%) y (33%) respectivamente, seguidas del segundo momento y por ultimo las cosechadas en el primer momento. Las semillas de *Calamagrostis vicunarum* obtenidas en el segundo momento fueron las que presentaron mayor porcentaje de viabilidad (70%) seguidas de las semillas correspondientes al primer (55%) y tercer momento de cosecha (55%). Durante la evaluación también se observaron semillas con ausencia de embrión. Esto probablemente sea como consecuencia de un desbalance hormonal durante el desarrollo de la semilla, ya que la fase de histodiferenciación, caracterizada por una alta tasa de divisiones nucleares que trae consigo un aumento notable del número células en el embrión, está controlada por giberelinas, citoquininas y auxinas (Matilla, 2008).



**Figura 27.** Porcentaje de viabilidad de *Festuca humilior*, *Festuca dolichophylla* y *Calamagrostis vicunarum* en tres momentos de cosecha.

Las coloraciones observadas coinciden con lo reportado por Ruiz, (2009) que tras la tinción con tetrazolio en semillas de *Bromus auleticus* Trin. Ex Nees, se obtuvo coloraciones entre rosado claro a rojo carmín (viable), blanco o blanco amarillento (no viable), y rosa pálido amarillento (no viable). No se encontraron embriones con coloración diferente a las ya mencionadas, pero si se encontraron cariósides con endosperma disperso en la solución, debido probablemente a la delicadeza de su



estructura, grado de madurez, exceso de tiempo sumergido en la solución e incluso al tipo de corte.

**Tabla 5:** Viabilidad obtenida en las tres especies evaluadas en los tres momentos de cosecha

Especie	Momento de cosecha			Promedio
	Primer momento	Segundo momento	Tercer momento	
<i>Festuca dolichophylla</i>	30+/-5.77	55+/-15	60+/-12.58	48.33
<i>Festuca humilior</i>	15+/-18.26	23+/-10	33+/-11.55	23.67
<i>Calamagrostis vicunarum</i>	55+/-5.77	70+/-8.16	55+/-12.91	60
<b>Promedio</b>	33.33	49.33	49.33	44

#### Influencia del tipo de corte en el ensayo topográfico con tetrazolio

El tipo de corte realizado en la semilla previo a la tinción influye en la concentración a utilizar de la solución cloruro de 2,3,5 – trifeniltetrazolio. Durante la prueba se realizó un corte lateral cercano al embrión ya que, al ser semillas pequeñas; 8.4mm en *Festuca dolichophylla*, 6.3mm en *Festuca humilior* y 5.1mm en *Calamagrostis vicunarum*, el corte longitudinal se torna muy complicado y laborioso pese a que con este se podría observar la tinción y estructuras con mayor detalle. Mediante el corte lateral no se lograron observar las estructuras con detalle, pero la tinción fue suficiente para poder diferenciar semillas viables y no viables. Otro aspecto importante observado durante la prueba de tetrazolio fue la dispersión del endosperma, esto fue observado mayormente tras un corte longitudinal pues al estar expuesto directamente a la solución, el endospermo suele dispersarse en la solución dejando al embrión como única estructura visible; por otro lado un corte lateral permite que el endospermo más cercano a la zona de corte se disperse fácilmente impidiendo que esto suceda con el endospermo más cercano al embrión, esto facilita la manipulación y la identificación de semillas viables.

Si nos referimos a la presencia de latencia o dormancia en las semillas, durante el ensayo de germinación se brindó las condiciones necesarias para las germinaciones recomendadas por ISTA (2016) que son humedad, luz, aireación y temperatura. Pese a ello existe una variación

entre el porcentaje de semillas viables y el porcentaje de germinación lo que nos indica que estas semillas poseen dormancia pues existen una o varias condiciones dentro de las propias semillas que las impidan germinar.



**Figura 28.** Semilla no viable de *Calamagrostis vicunarum*

## V. CONCLUSIONES

1. En base al porcentaje de pureza, el porcentaje de germinación y la viabilidad obtenido, el momento óptimo de cosecha para las tres especies evaluadas es a los 35 días post floración (tercer momento de cosecha).
2. Entre las especies evaluadas, *Calamagrostis vicunarum* presenta el mayor porcentaje de pureza y mayor porcentaje de viabilidad. Sin embargo, *Festuca humilior* es la especie que posee mayor porcentaje de germinación, parámetro muy importante en la comercialización de semillas.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Se recomienda repetir el mismo estudio en una o dos estaciones de crecimiento.
- Se recomienda estudiar más detalladamente la maduración de semillas en las tres especies, particularmente en *Calamagrostis vicunarum*.
- Se recomienda continuar estudios con *Festuca dolichophylla* dado que es considerada una especie altamente deseable, sin embargo, esta presenta bajos porcentajes de germinación y viabilidad.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andersen, S. y Andersen, K. 1980. The relationship between seed maturation and seed yield in grasses. In *Seed production*. Butterworth Publishers.
- Anslow, R. 1962. Seed formation in perennial ryegrass I. Anther exertion and seed set. *J. Br. Grassland. Soc.* 18:90-96.
- AOSA (Association of Official Seed Analysts, EEUU). 2017. Tetrazolium testing handbook.
- Barbosa, N; Fernandes, G; Carneiro, M; Júnior, L. 2010. Distribution of non-native invasive species and soil properties in proximity to paved roads and unpaved roads in a quartzitic mountainous grassland of southeastern Brazil (rupestrian fields). *Biological Invasions* 12: 3745-3755.
- Baldwin, H. 1933. Germination of red spruce. *Plant Physiology*. 9, 491\_532.
- Baskin, C. y Baskin, J. 1998. *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. San Diego, EEUU.
- Baskin, C. y Baskin, J. 2001. *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. California, EEUU.
- Basra, A. 1995. *Seed quality; basic mechanisms and agricultural implications*. Basra, A. S. (ed.) Food Products Press. Preface. New York, EEUU.
- Bewley, J; Hilhorst, H; Bradford, K; Nonogaki, H; 2013. *Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy*. Springer, New York, EEUU.
- Billings, W; y Mooney, H; 1968. The Ecology of Arctic and Alpine Plants. *Biological Reviews*, 43(4), 481-529.
- Black, M. y Bewley, J. 2000. *Seed Technology and its Biological Basis*. CRC Press, Florida, USA.
- Bonner, F. 1974. *Seed Testing. Seeds of woody plants in the United States*, Agriculture Handbook № 450. Wáshington D.C, EEUU.
- Boonman, J. 1978. Producción de semillas de pastos tropicales en África, con referencia especial en Kenya. En Tergas LE, Sánchez PA (Eds.) Producción de

- Pastos en Suelos Ácidos de los Trópicos. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia. pp. 385-402.
- Buckner, D. 2010. Native Plant Revegetation Guide for Colorado. Colorado Department of Natural Resources. Colorado, EEUU. Vol 3.91-95.
- Castañeda, S; Garzón, A; Cantillo, M; Torres, M; Silva, L. 2006. Análisis de la respuesta de ocho especies nativas del bosque alto andino ante dos métodos de propagación. *Colombia Forestal*, 10(20), 79–90. Colombia.
- Cavieres, L. 1999. Bancos de semillas persistentes: modelos de germinación retardada y su aplicación en ambientes alpinos. *Revista Chilena de Historia Natural*, 72, 457–466. Chile.
- Colabelli, M; Agnusdei, M; Mazzanti, A; Labreveux, M. 1998. El proceso de Crecimiento y Desarrollo de Gramíneas Forrajeras Como base Para el Manejo de la Defoliación. Estación Experimental Agropecuaria Balcarce. Boletín Técnico N 148. Prov. Bs.As., Argentina.
- Comander, L; Rokich, D; Renton, M; Dixon, K; Merritt, D. 2012. Optimising seed broadcasting and greenstock planting for restoration in the Australian arid zone. *Journal of Arid Environments* 88(2013) 226-235.
- Craviotto, R; Varela, H; Franconi, C. 1991. Prueba de Tetrazolio. Manual de Evaluación para Semilla de Soja. Publicación Miscelánea Laboratorio de Semillas EEA Oliveros. 32 pp.
- Darris, D. 2005. Seed production and establishment of western oregon native grasses. Seed production research at Oregon State University USDA Forest Service Proceeding RMRS-P-35.2005. pp. 119-127
- Delouche, J; Wayne, T; Mabel, R. y Myrta, L. 1971. Prueba de viabilidad de la semilla con tetrazol. Estación experimental Agrícola de la universidad estatal de Mississippi. EEUU.
- Distel, R; Pietragalla, J; Rodríguez, R; Didoné, N. y Andrioli, R. 2008. La restauración de pastos palatables: Un caso de estudio de pastizales degradados del centro de Argentina. *Journal of Arid Environments*. 72(10), 1968-1972.
- Eastburn, D; Roche, L; Doran, M; Blake, R; Bouril, CH; Gamble, G; Gornish. E. 2018. Seeding plants for long-term multiple ecosystem service goals. *Journal of Environmental Management* 211(2018) 191-197.
- Ehlke, N. y Undersander, D. 1990. Cool Season Grass Seed Production. Alternative Field Crops Manual. Minnesota Extension Service. EEUU.

- Engler, A. 1908. Tatsachen, Hypothesen und Irrtümer auf dem Gebiete der Samenprovenienzfrage. *Forstwissenschaftliches Centralblatt* 30: 295-314.
- Edmands, S. 2007. Between a rock and a hard place: evaluating the relative risks of inbreeding and outbreeding for conservation and management. *Molecular Ecology*, 16(3), 463–475.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2011. Semillas en emergencia: Manual técnico. Estudio FAO producción y protección vegetal. 202. ISSN 1014 – 1227. Roma, Italia.
- Fenner, M. 1995. The effect of pre-germination chilling on subsequent growth and flowering in three arable weeds. *Weed Research* 35, 489--93.
- Fenner, M. y Thompson, K. 2005. *The ecology of seeds*. Nueva York: Cambridge University Press. EEUU.
- Filgueiras, T. 1981. Seed vigor and productivity. *Pesq. Agrop. Bras.* 16: 851-854.
- Finch-Savage, W. y Leubner-Metzger, G. 2006. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist*, 171(3), 501–523.
- Flores, E. 1999. Tambos alpaqueros y pastizales II: Mejoramiento de praderas naturales. Proyecto especial tambos alpaqueros. Boletín técnico LUP N° 12. Lima, Perú.
- Fung, M; y Hamel, B. 1993. Aspen seed collection and extraction. *Tree Planters' Notes*, 44(3), 98–100.
- Gao, Y; Yu Qiu, G; Shimizu. H; Tobe, K; Sun, B. y Wang, J. 2002. A 10-year study on techniques for vegetation restoration in a desertified salt lake area. *Journal of Arid Environments*. 52, 483-497.
- García, G. 2016. Influencia de la revegetación con *Festuca humilior* y la incorporación de fertilizantes en la recuperación de pastizales degradados. Tesis Ing. Lima, Perú, Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Goeldner, J. 1995. A Seattle-area volunteer based plant-rescue program. *Restoration and Management Notes* 13:16-19.
- González, Y. 2001. Momento óptimo de cosecha de las semillas de *Brachiaria brizantha* cv. CIAT 16448. *Pastos Forrajes* 24: 27-33.
- Goor, A. y Barney, C. 1976. *Forest tree planting in arid zones* (2a. Ed.) Ronald Press, Nueva York. EEUU.

- Haig, D. y Westoby, M. 1988. Inclusive fitness, seed resources, and maternal care. In: J. Lovett-Doust and L. Lovett-Doust (eds.), *Plant Reproductive Ecology: Patterns and strategies*: 60- 79. Oxford University Press. Oxford. England.
- Hebblethwaite, P. y Ahmed, M. 1978. Optimum time for combine harvesting for amenity grasses grown for seed. *J. Br. Grassi. Soc.* 23:35-40.
- Herbel, C; Gibbens, R. y Tremble, J. 1977. Improving production from arid rangelands in the southwestern United States, p. 625-628 In: *Proc. XIII Internat. Grass. Cong.*, Leipzig, G.D.R.
- Herbel, C. 1983. Principles of intensive range improvements. *Journal of range management.* 36(2):140-144.
- Heydecker, W. 1973. *Viability of Seeds* Ed E. H. Roberts London: Chapman and Hall (1972), pp. 448, £7.00. *Experimental Agriculture*, 9(2), 190-190. doi:10.1017/S0014479700005664
- Horton, H. 1989. *Interagency Forage and Conservation Planting Guide for Utah.* Extension Circular EC433. Utah State University, Agricultural Experiment Station. Utah. EEUU.
- Horton, h; Asay, K; Glover, T; Young, S; Haws, B; Dewey, S; Evans, J. 1990. *Grass Seed Production Guide for Utah.* (En línea). Utah. EEUU.
- Hovin, A. 1980. Cool-season grasses. p. 285-298. In W.R. Fehr and H.H. Hadley (ed.) *Hybridization of crop plants.* CSSA and ASA, Madison, WI.
- Howarth, M. y Stanwood, P. 1993. Tetrazolium staining viability test using color image processing. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers* 36:1937–1940.
- Hufford, K y Mazer, S. 2003. Plant ecotypes: genetic differentiation in the age of ecological restoration. *Trends in Ecology and Evolution* 18: 147-155.
- Hubert, J; y Cottrell, J. 2007. *The role of forest genetic resources in helping British forests respond to climate change.* Edinburg: Forestry Commision.
- INASE (Instituto Nacional de Semillas). 2018. Estándar específico de Festuca. Uruguay.
- ISTA (International Seed Testing Association). 2006. International rules for seed testing.
- ISTA (International Seed Testing Association). 2014. International rules for seed testing.



- ISTA (International Seed Testing Association). 2016. International rules for seed testing.
- Jakobsson, A. y Eriksson, O. 2000. A comparative study of seed number, seed size, seedling size and recruitment in grassland plants. *Oikos* 88: 494-502.
- Joaquín, T; Moreno, C; Martínez, H; Hernández, G; Gómez, V; Pérez, A. 2006. Efecto de la fitohormona esteroidea cidef-4 en el rendimiento y calidad de semilla. *Téc. Pec. Méx.* 44: 193-201.
- Johnson, G; Sorensen, F; Clair, J. y Cronn, R. 2004. Pacific Northwest forest tree seed zones: a template for native plants. *Native Plants Journal* 5: 131-140.
- Johnson, E. y Fryer, G. 1992. Physical characterization of seed microsites - movement on the ground. *The Journal of Ecology*, 80(4), 823.
- Kitajima, K. y Fenner, M. 2000. Ecology of seedling regeneration. En M. Fenner (Ed.), *Seeds: The ecology of regeneration in plant communities* (pp. 331–361). Oxo, UK: CABI Publishing.
- Klein, M. y Harmond, J. 1971. Seed moisture: A harvest timing index for maximum yields. *Trans. ASAE*, 14:124–126.
- Körner, C. 2003. *Alpine Plant Life: Functional Plant Ecology of High Mountain Ecosystems*. Switzerland: Springer.
- Kruse, M. 1996. Embryo excision versus longitudinal cut in tetrazolium viability determination of cereal seeds. *Seed Science and Technology* 24: 171-183.
- Leishman, M. y Westoby, M. 1994. Hypotheses on seed size: tests using the semiarid flora of western New South Wales, Australia. *American Naturalist*. 143: 890-906.
- Madejón, P; Murillo, J; Marañón, T; Cabrera, F; Soriano, M. 2003. Trace element and nutrient accumulation in sunflower plants two years after the Aznalcollar mine spill. *The Science of the Total Environment* 307: 239-257.
- Marqués, M; Bienes, R; Jiménez, L. y Pérez-rodríguez, R. 2007. Effect of vegetal cover on runoff and soil erosion under light intensity events. Rainfall simulation over USLE plots. *Science of the Total Environment* 378: 161–165.
- Martínez-peña, L; Díaz-Espinosa, A y Vargas-Ríos, O. 2012. *Protocolo de Propagación de Plantas Hidrófilas y Manejo de Viveros para la Rehabilitación Ecológica de los Parques Ecológicos Distritales de Humedal*. Universidad Nacional de Colombia, Grupo de Restauración Ecológica de la Universidad Nacional de Colombia y Secretaría Distrital de Ambiente. Colombia.

- Matilla, A. 2008. Desarrollo y germinación de las semillas. McGraw Hill (ed). 537 – 558.
- Mcdonald, M. 1975. A review and evaluation of seed vigor tests. Proceedings of the Association of Official Seed Analysts. V. 65, p. 109-139.
- Moore, K; Moser, K; Vogel, K; Waller, S; Johnson, B; Pedersen, J. 1991. Describing and quantifying growth stages of perennial forage grasses. Agron. J. 83. pp. 1073 – 1077.
- Muller-landau, H; Wright, S; Calderón, O; Condit, R; y Hubbell, S. 2008. Interspecific variation in primary seed dispersal in a tropical forest. *Journal of Ecology*, 96(4), 653–667.
- NRCS (National Resources Conservation Services). 2006
- Najda, H; Lopetinsky, K. y Bjorge, M. 2005. Harvesting Grass Seed. Alberta Agriculture. Agdex 127/150-1.
- Numata, M. 1992. The degradation of grassland ecosystems and their recovery. Pages 75–84 in M. K. Wali, editor. Ecosystem rehabilitation. Volume 2. Ecosystem analysis and synthesis. Academic Publishing. The Hague, The Netherlands.
- Peart, M. 1984. The effects of morphology, orientation and position of grass diaspores on seedling survival. *Journal of Ecology* 72, 437–453.
- Perez-Garcia, F. y Martinez-Laborde, J. 1994. Introducción a la fisiología vegetal. Ediciones Munid-prensa, Madrid, España.
- Raja, H. y Bean, E. 1979. Seed development and seed shedding in North Italian ecotypes of *Lolium multiflorum*. *Grass and Forage Science*. 34: 221-227.
- Rey, B. 2006. Revegetación de campos abandonados en ambientes mediterráneos. Dpto. de Ecología, Universidad de Alcalá. Pp 130-142.
- Rodriguez, M. 1998. Madurez fisiológica de la semilla de *Festuca breviaristata* “Tun Tun”. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima.
- Royo, M. 2006. Grassland Rehabilitation. USDA Forest Service Proceedings RMRS – P-40.
- Ruiz, M; Perez, M; Arguello, J. y Babinee, F. 2003. Madurez fisiológica de la semilla *Bromus auleticus Trin.* (cebadilla chaqueña). RIA 32: 3-20, INTA. Argentina.
- Ruiz, M. 2009. El análisis de tetrazolio en el control de calidad de semillas. Caso de estudio: cebadilla chaqueña. La Pampa, Argentina: INTA. Publicación técnica N°. 77.

- Sakai, S. y Harada, Y. 2001. Why do large mothers produced large offspring Theory and test. *American Naturalist* 157: 349-359.
- Santamarina, M; García, F; Vilella, V. y Roselló, J. 2004. Biología y Botánica. Tomo I. 2ª ed. Editorial de la Universidad Politécnica de Valencia. ISBN:84-9705-653-1. Valencia, España. Pag. 298.
- Schmidt, L. 2000. *Guide to handling of tropical and subtropical forest seed*. Humlebaek, Denmark: Danida Forest Seed Centre.
- Sherry, R; Zhou, X; Gu, S; Arnone, J; Schimel, D; Verburg, P; Wallace, L; Luo, Y. 2007. Divergence of reproductive phenology under climate warming. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 104: 198–202.
- Stanisavljević, R; Vučković, S; Simić A; Marković, J; Lakić, Z; Terzić, D; Dokić, D. 2012. Acid and temperature treatments result in increased germination of seeds of three fescue species. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici*, 40 (2): 220-226
- Tácuna, R; Aguirre, L; Flores, E. 2015. Influencia de la revegetación con especies nativas y la incorporación de materia orgánica en la recuperación de pastizales degradados. *Ecología Aplicada*. Departamento Académico de Biología, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima-Perú. Pp. 191 – 200.
- Temme, D. 1986. Seed size variability: a consequence of variable genetic quality among offspring. *Evolution* 40: 414-417.
- Thomas, B; Mark, E; Thomas, G; William, C. 2010. Using Seed Moisture as a Harvest Management Tool. Oregon State University.
- Van-Kleunen, M. 2007. Adaptive genetic differentiation in life- history traits between populations of *Mimulus guttatus* with annual and perennial life-cycles. *Evolutionary Ecology* 21: 185–199.
- Vander Wall, S; Forget, P; Lambert, J. y Hulme, P. 2005. Seed fate pathways: filling the gap between parent and offspring. En P.-M. Forget, J. E. Lambert, P. E. Hulme, & S. B. Vander Wall (Eds.), *Seed fate: Predation, dispersal and seedling establishment* (pp. 1–8). Cambridge, Massachusettes: CABI Publishing.
- Varela, S. y Arana, V. 2011. Latencia y Germinación de Semillas. Tratamientos Pregerminativos. *Serie Técnica “Sistemas Forestales Integrados”*. Vol. 3. pp 10. Bariloche, Argentina.
- Vázquez - Yanez, C. 1990. Ecología y Conservación de semillas. Centro de Ecología. UNAM. Especial 4. pp 30 – 33.

- Vaughton, G. y Ramsey, M. 1997. Seed mass variation in the shrub *Banksia spinulosa* (Proteaceae): resource constraints and pollen source effects. *International Journal of Plant Sciences* 158: 424-431.
- Willson, M. 1983. Plant reproductive ecology. Wiley, New York, EEUU.
- Willson, M; Rice, B. y Westoby, M. 1990. Seed dispersal spectra: a comparison of temperate plant communities. *Journal of Vegetation Science* 1, 547- 62.
- World Resources Institute. 2000.
- Zingel, M; Froneman, P; Blomerus, R. 2007. Manual of Analyse the Germination of Seed. Sparrow Research and Industrial Consultants CC. South Africa.
- Zon, R. 1913. Effect of source of seed upon the growth of Douglas fir. *Forestry Quarterly* 11: 499-502.

## VIII. ANEXOS

### Anexo 1. Análisis de caracterización de suelo de la zona 1 (P3-T1) y zona 2 (P7-T1).



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA  
 FACULTAD DE AGRONOMIA - DEPARTAMENTO DE SUELOS  
 LABORATORIO DE ANÁLISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES



### ANÁLISIS DE SUELOS : CARACTERIZACIÓN

Solicitante : LABORATORIO DE UTILIZACIÓN DE PASTIZALES

Departamento : JUNÍN  
 Distrito : PACHACAYO  
 Referencia : H.R. 52525-141C-15

Provincia : JULIA  
 Pedregal : C.C. SAIS TUPAC AMARU  
 Fecha : 15/12/15

Lab	Número de Muestra Claves	pH (1:1)	C E (1:1) dSm	CaCO <sub>3</sub> %	M.O. %	P ppm	K ppm	Análisis Mecánico			Clase Textural	CIC	Cationes Cambiables meq/100g					Suma de Cationes Bases	Suma de Sul. De Bases	%
								Arena %	Limo %	Arcilla %			Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Al <sup>3+</sup> +H <sup>+</sup>			
16306	P1-T1	5.46	0.13	0.00	6.29	14.3	193	63	28	9	Ft.A.	31.52	12.60	1.22	0.47	0.17	0.10	14.56	14.46	46
16307	P2-T1	5.42	0.20	0.00	8.96	8.7	209	61	32	7	Ft.A.	36.68	16.60	1.80	0.47	0.20	0.10	19.17	19.07	53
16308	P2-T2	5.33	0.18	0.00	9.86	9.0	256	67	26	7	Ft.A.	36.48	14.40	1.87	0.55	0.19	0.10	17.11	17.01	47
16309	P2-T3	5.22	0.23	0.00	9.04	11.1	266	61	30	9	Ft.A.	32.00	12.90	1.60	0.54	0.17	0.10	15.31	15.21	48
16310	P3-T1	5.54	0.19	0.00	6.32	7.5	105	63	30	7	Ft.A.	31.68	14.50	1.30	0.27	0.17	0.10	16.35	16.25	51
16311	P4-T1	5.58	0.17	0.00	10.63	4.4	166	55	34	11	Ft.A.	14.72	12.46	1.70	0.30	0.17	0.10	14.72	14.62	99
16312	P5-T1	6.23	0.15	0.00	5.30	2.5	62	67	24	9	Ft.A.	16.04	13.25	1.52	0.15	0.12	0.00	15.04	15.04	100
16313	P7-T1	4.21	0.07	0.00	7.26	5.1	177	59	30	11	Ft.A.	22.72	2.74	0.60	0.32	0.09	3.50	7.24	3.74	16

A = Arena, A.Fr = Franco Arenoso, Fr = Franco, F.L = Franco Limoso, L = Limoso, F.r.M.A = Franco Arcillo Arenoso, Fr.Ar = Franco Arcilloso  
 F.r.A.L = Franco Arcillo Limoso, Ar.A = Arcillo Arenoso, Ar.L = Arcillo Limoso, Av = Arcilloso

Sady García Bendezi  
 Jefe del Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM - Tel.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Director: 349-5622 e-mail: labsuelos@lamolina.edu.pe

**Anexo 2. Ficha descriptiva de relevamiento pajonal P3 Mesapata. (Noviembre 2015).**

**LABORATORIO DE ECOLOGÍA Y UTILIZACIÓN DE PASTIZALES**


<b>A. INFORMACIÓN GENERAL</b>			
1. Comunidad o Granja: SAIS Tupac Amaru-			
2. Propietario: Empresa Ganadera SAIS Tupac Amaru			
3. Sitio N° P3-T1 Mesapata	4. Geología:		
5. Coordenadas (WGS-84) UTM 422941 Longitud 8678279	6. Altitud (msnm) 4164		
7. Zona de Vida: pmh - SaT	8. Uso de la Tierra Pastoreo		
<b>B. ECOLOGÍA DE LA VEGETACIÓN</b>			
9. Tipo Pastizal: Pajonal	10. Cobertura Vegetal (%) 90		
	11. Mantillo Regular		
12. Especies Dominantes Dominante: <i>Festuca humilior</i> Sub-Dominante: <i>Calamagrostis vicunarium</i> Sub-Sub-Dominante: <i>Alchemilla pinnata</i>			
13. Intensidad de Uso: Moderado			
14. Tendencia del Pastizal (SI/No): Positiva			
Plántulas	Si		
Mantillo	Si		
Erosión Laminar o Cárcavas	No		
Vigor de Plantas	No		
Especies Perennes	Si		
Malezas <20%	Si		
<b>C. AGUA</b>			
25. Fuentes de Agua: Ojo de agua			
26. Tipo: Temporal			
<b>D. MORFOLOGÍA DE SUELOS</b>			
15. Posic. Topográfica	Planicie	19. Grado de Erosión	Ligera
16. Paisaje Circundante	Ondulado suave	20. Pedregosidad Superf. (%)	0 a 3
17. Pendiente (%)	2 a 5	21. Afloram. Rocoso (%)	Menor a 2
18. Signo de erosión	Laminar	22. Textura : Franco Limoso	
23. Estructura:	Granular	24. Profundidad Suelo: 25 a 50	(Superficial )
27. Vigor de las especies claves	Vacunos y Llamas : <i>Festuca humilior</i> ( Altura max.40cm y min.15cm)	Observaciones: Épocas de sequia	Pastoreo : Descanso
	Alpacas y Ovinos <i>Calamagrostis vicunarium</i> ( Altura max.11cm y min.4cm )		





### Anexo 3. Ficha descriptiva de relevamiento pajonal P7 Mesapata. (Noviembre 2015).

#### LABORATORIO DE ECOLOGÍA Y UTILIZACIÓN DE PASTIZALES

<b>A. INFORMACIÓN GENERAL</b>			
1. Comunidad o Granja: SAIS Tupac Amaru-			
2. Propietario: Empresa Ganadera SAIS Tupac Amaru			
3. Sitio N° P7-T1 Mesapata	4. Geología:		
5. Coordenadas (WGS-84) UTM 422996 Longitud 8676825	6. Altitud (msnm) 4185		
7. Zona de Vida: pmh - SaT	8. Uso de la Tierra Pastoreo		
<b>B. ECOLOGÍA DE LA VEGETACIÓN</b>			
9. Tipo Pastizal: Pajonal	10. Cobertura Vegetal (%) 93		
	11. Mantillo: Abundante		
12. Especies Dominantes Dominante: <i>Festuca dolichophylla</i> Sub-Dominante: <i>Calamagrostis vicunarum</i> Sub-Sub-Dominante: <i>Alchemilla pinnata</i>			
13. Intensidad de Uso: Moderado			
14. Tendencia del Pastizal (Si/No): Positiva			
Plántulas	Si		
Mantillo	Si		
Erosión Laminar o Cárcavas	No		
Vigor de Plantas	Si		
Especies Perennes	Si		
Malezas <20%	Si		
			
		<b>C. AGUA</b>	
25. Fuentes de Agua: Lluvia			
26. Tipo: Temporal			
<b>D. MORFOLOGÍA DE SUELOS</b>			
15. Posic. Topográfica	Pendiente cóncava	19. Grado de Erosión	Ligera
16. Paisaje Circundante	Colinado	20. Pedregosidad Superf. (%)	0 a 3
17. Pendiente (%)	Moderadamente empinada (15 a 30)	21. Afloram. Rocoso (%)	Menor a 2
18. Signo de erosión	Laminar	22. Textura : Franco	Pastoreo : Cercado
27. Vigor de las especies claves	Vacunos y Llamas : <i>Festuca dolichophylla</i> ( Altura max.98cm y min.60.5cm)		Alpacas y Ovinos <i>Calamagrostis vicunarum</i> ( Altura max.13cm y min.7cm )

**Anexo 4. Datos correspondientes al análisis de pureza.**

Primer momento de cosecha de <i>Festuca dolichophylla</i>								
ESPECIE	NUMERO	COSECHA	S. PURA (gr)	M. INERTE (gr)	TOTAL	S. PURA (%)	M. INERTE (%)	TOTAL
FEDO	1	1	0.0081	0.044	0.0521	15.55	84.45	100
FEDO	2	1	0.01	0.0225	0.0325	30.77	69.23	100
FEDO	3	1	0.0063	0.0313	0.0376	16.76	83.24	100
FEDO	4	1	0.0085	0.0196	0.0281	30.25	69.75	100
FEDO	5	1	0.0078	0.0407	0.0485	16.08	83.92	100
FEDO	6	1	0.0034	0.0156	0.019	17.89	82.11	100
FEDO	7	1	0.0043	0.013	0.0173	24.86	75.14	100
FEDO	8	1	0.039	0.0368	0.0758	51.45	48.55	100
FEDO	9	1	0.005	0.0377	0.0427	11.71	88.29	100
FEDO	10	1	0.0093	0.017	0.0263	35.36	64.64	100
FEDO	11	1	0.0269	0.0447	0.0716	37.57	62.43	100
FEDO	12	1	0.0172	0.0213	0.0385	44.68	55.32	100
FEDO	13	1	0.0078	0.0615	0.0693	11.26	88.74	100
FEDO	14	1	0.0249	0.0486	0.0735	33.88	66.12	100
FEDO	15	1	0.009	0.0211	0.0301	29.90	70.10	100
FEDO	16	1	0.0055	0.0342	0.0397	13.85	86.15	100
FEDO	17	1	0.0036	0.0317	0.0353	10.20	89.80	100
FEDO	18	1	0.0163	0.0448	0.0611	26.68	73.32	100
FEDO	19	1	0.0154	0.0637	0.0791	19.47	80.53	100
FEDO	20	1	0.0039	0.0216	0.0255	15.29	84.71	100
FEDO	21	1	0.014	0.0244	0.0384	36.46	63.54	100



**Continuación**

<b>ESPECIE</b>	<b>NUMERO</b>	<b>COSECHA</b>	<b>S. PURA (gr)</b>	<b>M. INERTE (gr)</b>	<b>TOTAL</b>	<b>S. PURA (%)</b>	<b>M.INERTE (%)</b>	<b>TOTAL</b>
FEDO	22	1	0.0055	0.0352	0.0407	13.51	86.49	100
FEDO	23	1	0.017	0.0543	0.0713	23.84	76.16	100
FEDO	24	1	0.0091	0.0457	0.0548	16.61	83.39	100
FEDO	25	1	0.0176	0.0357	0.0533	33.02	66.98	100
FEDO	26	1	0.0202	0.0199	0.0401	50.37	49.63	100
FEDO	27	1	0.0037	0.0144	0.0181	20.44	79.56	100
FEDO	28	1	0.0058	0.0195	0.0253	22.92	77.08	100
FEDO	29	1	0.021	0.0434	0.0644	32.61	67.39	100
FEDO	30	1	0.0164	0.0844	0.1008	16.27	83.73	100

Segundo momento de cosecha de <i>Festuca dolichophylla</i>								
ESPECIE	NUMERO	COSECHA	S. PURA (gr)	M. INERTE (gr)	TOTAL	S. PURA (%)	M.INERTE (%)	TOTAL
FEDO	1	2	0.0127	0.0418	0.0545	23.30	76.70	100
FEDO	2	2	0.0015	0.0304	0.0319	4.70	95.30	100
FEDO	3	2	0.0037	0.0179	0.0216	17.13	82.87	100
FEDO	4	2	0.0076	0.0213	0.0289	26.30	73.70	100
FEDO	5	2	0.0146	0.0668	0.0814	17.94	82.06	100
FEDO	5	2	0.0142	0.0376	0.0518	27.41	72.59	100
FEDO	6	2	0.0002	0.0284	0.0286	0.70	99.30	100
FEDO	7	2	0.004	0.023	0.027	14.81	85.19	100
FEDO	8	2	0.0044	0.0426	0.047	9.36	90.64	100
FEDO	9	2	0.0024	0.0232	0.0256	9.38	90.63	100
FEDO	10	2	0.0037	0.0267	0.0304	12.17	87.83	100
FEDO	11	2	0.0192	0.059	0.0782	24.55	75.45	100
FEDO	12	2	0.0062	0.0224	0.0286	21.68	78.32	100
FEDO	13	2	0.0058	0.0446	0.0504	11.51	88.49	100
FEDO	14	2	0.0144	0.0509	0.0653	22.05	77.95	100
FEDO	15	2	0.002	0.0255	0.0275	7.27	92.73	100
FEDO	17	2	0.0134	0.0327	0.0461	29.07	70.93	100
FEDO	18	2	0.0203	0.0542	0.0745	27.25	72.75	100
FEDO	19	2	0.0148	0.0302	0.045	32.89	67.11	100
FEDO	20	2	0.0043	0.02	0.0243	17.70	82.30	100
FEDO	22	2	0.0035	0.0285	0.032	10.94	89.06	100

**Continuación**

<b>ESPECIE</b>	<b>NUMERO</b>	<b>COSECHA</b>	<b>S. PURA (gr)</b>	<b>M. INERTE (gr)</b>	<b>TOTAL</b>	<b>S. PURA (%)</b>	<b>M.INERTE (%)</b>	<b>TOTAL</b>
FEDO	23	2	0.0254	0.042	0.0674	37.69	62.31	100
FEDO	24	2	0.0102	0.0466	0.0568	17.96	82.04	100
FEDO	25	2	0.00814	0.0382	0.04634	17.57	82.43	100
FEDO	26	2	0.0124	0.0394	0.0518	23.94	76.06	100
FEDO	27	2	0.0051	0.0336	0.0387	13.18	86.82	100
FEDO	28	2	0.0046	0.0241	0.0287	16.03	83.97	100
FEDO	29	2	0.022	0.0606	0.0826	26.63	73.37	100
FEDO	30	2	0.0037	0.071	0.0747	4.95	95.05	100

Tercer momento de cosecha de <i>Festuca dolichophylla</i>								
ESPECIE	NUMERO	COSECHA	S. PURA (gr)	M. INERTE (gr)	TOTAL	S. PURA (%)	M. INERTE (%)	TOTAL
FEDO	1	3	0.01952	0.0573	0.07682	25.41	74.59	100
FEDO	2	3	0.0041	0.0467	0.0508	8.07	91.93	100
FEDO	3	3	0.0008	0.0165	0.0173	4.62	95.38	100
FEDO	4	3	0.0037	0.0197	0.0234	15.81	84.19	100
FEDO	6	3	0.003	0.0299	0.0329	9.12	90.88	100
FEDO	8	3	0.0091	0.0466	0.0557	16.34	83.66	100
FEDO	9	3	0.0066	0.0145	0.0211	31.28	68.72	100
FEDO	10	3	0.0044	0.0186	0.023	19.13	80.87	100
FEDO	11	3	0.0359	0.0339	0.0698	51.43	48.57	100
FEDO	13	3	0.0094	0.0452	0.0546	17.22	82.78	100
FEDO	14	3	0.0277	0.0409	0.0686	40.38	59.62	100
FEDO	15	3	0.0032	0.0298	0.033	9.70	90.30	100
FEDO	7	3	0.0126	0.0276	0.0402	31.34	68.66	100
FEDO	16	3	0.0017	0.01013	0.01183	14.37	85.63	100
FEDO	18	3	0.0291	0.0608	0.0899	32.37	67.63	100
FEDO	19	3	0.0097	0.0438	0.0535	18.13	81.87	100
FEDO	20	3	0.0013	0.0191	0.0204	6.37	93.63	100
FEDO	21	3	0.0022	0.0344	0.0366	6.01	93.99	100
FEDO	22	3	0.0111	0.0169	0.028	39.64	60.36	100
FEDO	23	3	0.0541	0.0646	0.1187	45.58	54.42	100
FEDO	27	3	0.103	0.0208	0.1238	83.20	16.80	100

**Continuación**

ESPECIE	NUMERO	COSECHA	S. PURA (gr)	M. INERTE (gr)	TOTAL	S. PURA (%)	M. INERTE (%)	TOTAL
FEDO	24	3	0.0049	0.03	0.0349	14.04	85.96	100
FEDO	25	3	0.0447	0.0374	0.0821	54.45	45.55	100
FEDO	26	3	0.0064	0.0331	0.0395	16.20	83.80	100
FEDO	28	3	0.0047	0.0172	0.0219	21.46	78.54	100
FEDO	29	3	0.0252	0.0371	0.0623	40.45	59.55	100

Primer momento de cosecha de <i>Festuca humilior</i>								
ESPECIE	NUMERO	COSECHA	S. PURA (gr)	M. INERTE (gr)	TOTAL	S. PURA (%)	M.INERTE (%)	TOTAL
FEHU	1	1	0.0016	0.0075	0.0091	17.58	82.42	100
FEHU	2	1	0.005	0.0023	0.0073	68.49	31.51	100
FEHU	3	1	0.0016	0.0037	0.0053	30.19	69.81	100
FEHU	4	1	0.0142	0.0077	0.0219	64.84	35.16	100
FEHU	5	1	0.0064	0.0114	0.0178	35.96	64.04	100
FEHU	6	1	0.0023	0.003	0.0053	43.40	56.60	100
FEHU	7	1	0.0057	0.0079	0.0136	41.91	58.09	100
FEHU	8	1	0.001	0.0022	0.0032	31.25	68.75	100
FEHU	9	1	0.0071	0.0045	0.0116	61.21	38.79	100
FEHU	10	1	0.0084	0.0041	0.0125	67.20	32.80	100
FEHU	11	1	0.0023	0.0075	0.0098	23.47	76.53	100
FEHU	12	1	0.0011	0.0051	0.0062	17.74	82.26	100
<i>FEHU</i>	13	1	0.003	0.0043	0.0073	41.10	58.90	100
FEHU	14	1	0.0054	0.0052	0.0106	50.94	49.06	100
FEHU	15	1	0.0031	0.0037	0.0068	45.59	54.41	100
FEHU	16	1	0.0015	0.014	0.0155	9.68	90.32	100
FEHU	17	1	0.0073	0.0101	0.0174	41.95	58.05	100
FEHU	18	1	0.0023	0.0031	0.0054	42.59	57.41	100
FEHU	19	1	0.0051	0.0052	0.0103	49.51	50.49	100
FEHU	20	1	0.0037	0.0061	0.0098	37.76	62.24	100
FEHU	21	1	0.0039	0.0025	0.0064	60.94	39.06	100

**Continuación**

<b>ESPECIE</b>	<b>NUMERO</b>	<b>COSECHA</b>	<b>S. PURA (gr)</b>	<b>M. INERTE (gr)</b>	<b>TOTAL</b>	<b>S. PURA (%)</b>	<b>M.INERTE (%)</b>	<b>TOTAL</b>
FEHU	22	1	0.0033	0.0099	0.0132	25.00	75.00	100
FEHU	23	1	0.0083	0.0107	0.019	43.68	56.32	100
FEHU	24	1	0.0078	0.0076	0.0154	50.65	49.35	100
FEHU	25	1	0.0103	0.0064	0.0167	61.68	38.32	100
FEHU	26	1	0.0071	0.0067	0.0138	51.45	48.55	100
FEHU	27	1	0.006	0.0027	0.0087	68.97	31.03	100
FEHU	28	1	0.0072	0.0055	0.0127	56.69	43.31	100
FEHU	29	1	0.0131	0.0061	0.0192	68.23	31.77	100
FEHU	30	1	0.003	0.0064	0.0094	31.91	68.09	100

Segundo momento de cosecha de <i>Festuca humilior</i>								
ESPECIE	NUMERO	COSECHA	S. PURA (gr)	M. INERTE (gr)	TOTAL	S. PURA (%)	M.INERTE (%)	TOTAL
FEHU	1	2	0.0039	0.0034	0.0073	53.42	46.58	100
FEHU	2	2	0.0017	0.0124	0.0141	12.06	87.94	100
FEHU	3	2	0.001	0.0048	0.0058	17.24	82.76	100
FEHU	4	2	0.0144	0.0066	0.021	68.57	31.43	100
FEHU	5	2	0.0033	0.0041	0.0074	44.59	55.41	100
FEHU	6	2	0.002	0.0079	0.0099	20.20	79.80	100
FEHU	7	2	0.0013	0.0135	0.0148	8.78	91.22	100
FEHU	8	2	0.0013	0.0044	0.0057	22.81	77.19	100
FEHU	9	2	0.0013	0.0024	0.0037	35.14	64.86	100
FEHU	10	2	0.0014	0.0041	0.0055	25.45	74.55	100
FEHU	11	2	0.0031	0.007	0.0101	30.69	69.31	100
FEHU	12	2	0.0046	0.0112	0.0158	29.11	70.89	100
FEHU	13	2	0.0031	0.0146	0.0177	17.51	82.49	100
FEHU	14	2	0.0016	0.008	0.0096	16.67	83.33	100
FEHU	15	2	0.002	0.0176	0.0196	10.20	89.80	100
FEHU	16	2	0.0015	0.0087	0.0102	14.71	85.29	100
FEHU	17	2	0.002	0.0073	0.0093	21.51	78.49	100
FEHU	18	2	0.0022	0.0091	0.0113	19.47	80.53	100
FEHU	19	2	0.0045	0.0097	0.0142	31.69	68.31	100
FEHU	20	2	0.0082	0.0071	0.0153	53.59	46.41	100
FEHU	21	2	0.0076	0.0039	0.0115	66.09	33.91	100



**Continuación**

ESPECIE	NUMERO	COSECHA	S. PURA (gr)	M. INERTE (gr)	TOTAL	S. PURA (%)	M.INERTE (%)	TOTAL
FEHU	22	2	0.0022	0.0029	0.0051	43.14	56.86	100
FEHU	24	2	0.0019	0.0123	0.0142	13.38	86.62	100
FEHU	25	2	0.0025	0.0072	0.0097	25.77	74.23	100
FEHU	26	2	0.0052	0.0156	0.0208	25.00	75.00	100
FEHU	27	2	0.0013	0.0093	0.0106	12.26	87.74	100
FEHU	28	2	0.0065	0.006	0.0125	52.00	48.00	100
FEHU	29	2	0.0011	0.0049	0.006	18.33	81.67	100

Tercer momento de cosecha de <i>Festuca humilior</i>								
ESPECIE	NUMERO	COSECHA	S. PURA (gr)	M. INERTE (gr)	TOTAL	S. PURA (%)	M.INERTE (%)	TOTAL
FEHU	1	3	0.0038	0.0058	0.0096	39.58	60.42	100
FEHU	2	3	0.0023	0.0053	0.0076	30.26	69.74	100
FEHU	3	3	0.0119	0.0053	0.0172	69.19	30.81	100
FEHU	4	3	0.0014	0.0098	0.0112	12.50	87.50	100
FEHU	5	3	0.0053	0.0105	0.0158	33.54	66.46	100
FEHU	6	3	0.005	0.0051	0.0101	49.50	50.50	100
FEHU	7	3	0.0052	0.0114	0.0166	31.33	68.67	100
FEHU	8	3	0.0028	0.0045	0.0073	38.36	61.64	100
FEDO	9	3	0.0044	0.034	0.0384	11.46	88.54	100
FEHU	10	3	0.0044	0.0049	0.0093	47.31	52.69	100
FEHU	11	3	0.0054	0.0013	0.0067	80.60	19.40	100
FEHU	12	3	0.0018	0.0044	0.0062	29.03	70.97	100
FEHU	14	3	0.004	0.0144	0.0184	21.74	78.26	100
FEHU	15	3	0.0025	0.0084	0.0109	22.94	77.06	100
FEHU	16	3	0.0022	0.0046	0.0068	32.35	67.65	100
FEHU	17	3	0.0032	0.0083	0.0115	27.83	72.17	100
FEHU	18	3	0.0014	0.005	0.0064	21.88	78.13	100
FEHU	20	3	0.0086	0.0129	0.0215	40.00	60.00	100
FEHU	21	3	0.0088	0.0029	0.0117	75.21	24.79	100
FEHU	22	3	0.0025	0.0048	0.0073	34.25	65.75	100
FEHU	23	3	0.0017	0.0112	0.0129	13.18	86.82	100

**Continuación**

<b>ESPECIE</b>	<b>NUMERO</b>	<b>COSECHA</b>	<b>S. PURA (gr)</b>	<b>M. INERTE (gr)</b>	<b>TOTAL</b>	<b>S. PURA (%)</b>	<b>M.INERTE (%)</b>	<b>TOTAL</b>
FEHU	24	3	0.0086	0.0028	0.0114	75.44	24.56	100
FEHU	25	3	0.0061	0.0047	0.0108	56.48	43.52	100
FEHU	26	3	0.0007	0.0138	0.0145	4.83	95.17	100
FEHU	27	3	0.0058	0.0061	0.0119	48.74	51.26	100
FEHU	28	3	0.0054	0.0042	0.0096	56.25	43.75	100
FEHU	29	3	0.0028	0.0081	0.0109	25.69	74.31	100
FEHU	30	3	0.0022	0.0085	0.0107	20.56	79.44	100

Primer momento de cosecha de <i>Calamagrostis vicunarium</i>								
ESPECIE	NUMERO	COSECHA	S. PURA (gr)	M. INERTE (gr)	TOTAL	S. PURA (%)	M. INERTE (%)	TOTAL
CAVI	1	1	0.0010	0.006	0.007	14.29	85.71	100
CAVI	2	1	0.0017	0.0043	0.006	28.33	71.67	100
CAVI	4	1	0.0046	0.0067	0.0113	40.71	59.29	100
CAVI	5	1	0.0035	0.0035	0.007	50.00	50.00	100
CAVI	6	1	0.0015	0.0078	0.0093	16.13	83.87	100
CAVI	7	1	0.0058	0.0195	0.0253	22.92	77.08	100
CAVI	9	1	0.0033	0.0035	0.0068	48.53	51.47	100
CAVI	10	1	0.0075	0.0057	0.0132	56.82	43.18	100
CAVI	11	1	0.0013	0.0039	0.0052	25.00	75.00	100
CAVI	12	1	0.0025	0.0069	0.0094	26.60	73.40	100
CAVI	13	1	0.0031	0.0089	0.012	25.83	74.17	100
CAVI	14	1	0.0020	0.0034	0.0054	37.04	62.96	100
CAVI	15	1	0.0044	0.0044	0.0088	50.00	50.00	100
CAVI	16	1	0.0010	0.0044	0.0054	18.52	81.48	100
CAVI	17	1	0.0059	0.0011	0.007	84.29	15.71	100
CAVI	20	1	0.0026	0.0025	0.0051	50.98	49.02	100
CAVI	21	1	0.0098	0.009	0.0188	52.13	47.87	100
CAVI	22	1	0.0040	0.0052	0.0092	43.48	56.52	100
CAVI	23	1	0.0015	0.0025	0.004	37.50	62.50	100
CAVI	24	1	0.0064	0.0028	0.0092	69.57	30.43	100
CAVI	26	1	0.0031	0.0044	0.0075	41.33	58.67	100

**Continuación**

ESPECIE	NUMERO	COSECHA	S. PURA (gr)	M. INERTE (gr)	TOTAL	S. PURA (%)	M.INERTE (%)	TOTAL
CAVI	27	1	0.0085	0.0055	0.014	60.71	39.29	100
CAVI	28	1	0.0005	0.005	0.0055	9.09	90.91	100
CAVI	29	1	0.0041	0.0019	0.006	68.33	31.67	100

Segundo momento de cosecha de <i>Calamagrostis vicunarium</i>								
ESPECIE	NUMERO	COSECHA	S. PURA (gr)	M. INERTE (gr)	TOTAL	S. PURA (%)	M.INERTE (%)	TOTAL
CAVI	1	2	0.0010	0.0043	0.0053	18.87	81.13	100
CAVI	2	2	0.003	0.0036	0.0066	45.45	54.55	100
CAVI	3	2	0.0153	0.0067	0.022	69.55	30.45	100
CAVI	4	2	0.0073	0.0101	0.0174	41.95	58.05	100
CAVI	5	2	0.0072	0.0066	0.0138	52.17	47.83	100
CAVI	7	2	0.0044	0.0052	0.0096	45.83	54.17	100
CAVI	10	2	0.0118	0.011	0.0228	51.75	48.25	100
CAVI	11	2	0.0072	0.0068	0.014	51.43	48.57	100
CAVI	12	2	0.0031	0.0146	0.0177	17.51	82.49	100
CAVI	13	2	0.0055	0.0101	0.0156	35.26	64.74	100
CAVI	14	2	0.0052	0.0046	0.0098	53.06	46.94	100
CAVI	15	2	0.0073	0.0091	0.0164	44.51	55.49	100
CAVI	16	2	0.0024	0.0083	0.0107	22.43	77.57	100

**Continuación**

ESPECIE	NUMERO	COSECHA	S. PURA (gr)	M. INERTE (gr)	TOTAL	S. PURA (%)	M. INERTE (%)	TOTAL
CAVI	17	2	0.0004	0.0021	0.0025	16.00	84.00	100
CAVI	18	2	0.0081	0.0065	0.0146	55.48	44.52	100
CAVI	19	2	0.0007	0.0034	0.0041	17.07	82.93	100
CAVI	20	2	0.0026	0.0036	0.0062	41.94	58.06	100
CAVI	21	2	0.0059	0.0054	0.0113	52.21	47.79	100
CAVI	22	2	0.0064	0.009	0.0154	41.56	58.44	100
CAVI	23	2	0.0012	0.0079	0.0091	13.19	86.81	100
CAVI	24	2	0.0009	0.0055	0.0064	14.06	85.94	100
CAVI	25	2	0.0012	0.0022	0.0034	35.29	64.71	100
CAVI	26	2	0.0025	0.0115	0.014	17.86	82.14	100
CAVI	27	2	0.0023	0.012	0.0143	16.08	83.92	100
CAVI	29	2	0.0127	0.0029	0.0156	81.41	18.59	100
CAVI	30	2	0.00047	0.0015	0.00197	23.86	76.14	100

Tercer momento de cosecha de <i>Calamagrostis vicunarium</i>								
ESPECIE	NUMERO	COSECHA	S. PURA (gr)	M. INERTE (gr)	TOTAL	S. PURA (%)	M.INERTE (%)	TOTAL
CAVI	1	3	0.0199	0.0035	0.0234	85.04	14.96	100
CAVI	2	3	0.0014	0.0028	0.0042	33.33	66.67	100
CAVI	3	3	0.0056	0.012	0.0176	31.82	68.18	100
CAVI	4	3	0.0046	0.0036	0.0082	56.10	43.90	100
CAVI	5	3	0.0101	0.0034	0.0135	74.81	25.19	100
CAVI	6	3	0.0056	0.0139	0.0195	28.72	71.28	100
CAVI	7	3	0.0104	0.0049	0.0153	67.97	32.03	100
CAVI	8	3	0.0021	0.0037	0.0058	36.21	63.79	100
CAVI	9	3	0.0022	0.0063	0.0085	25.88	74.12	100
CAVI	10	3	0.009	0.0000	0.009	100.00	0.00	100
CAVI	11	3	0.014	0.0017	0.0157	89.17	10.83	100
CAVI	12	3	0.0022	0.0101	0.0123	17.89	82.11	100
CAVI	13	3	0.0052	0.0097	0.0149	34.90	65.10	100
CAVI	14	3	0.0115	0.0083	0.0198	58.08	41.92	100
CAVI	15	3	0.0055	0.0053	0.0108	50.93	49.07	100
CAVI	16	3	0.0018	0.0085	0.0103	17.48	82.52	100
CAVI	17	3	0.0093	0.0021	0.0114	81.58	18.42	100
CAVI	18	3	0.0051	0.0019	0.007	72.86	27.14	100
CAVI	19	3	0.001	0.0018	0.0028	35.71	64.29	100
CAVI	20	3	0.0031	0.0041	0.0072	43.06	56.94	100
CAVI	21	3	0.0096	0.0009	0.0105	91.43	8.57	100

**Continuación**

ESPECIE	NUMERO	COSECHA	S. PURA (gr)	M. INERTE (gr)	TOTAL	S. PURA (%)	M.INERTE (%)	TOTAL
CAVI	22	3	0.0147	0.0037	0.0184	79.89	20.11	100
CAVI	23	3	0.0016	0.0132	0.0148	10.81	89.19	100
CAVI	25	3	0.0014	0.0028	0.0042	33.33	66.67	100
CAVI	26	3	0.0102	0.0051	0.0153	66.67	33.33	100
CAVI	27	3	0.0014	0.0146	0.016	8.75	91.25	100
CAVI	28	3	0.008	0.0079	0.0159	50.31	49.69	100
CAVI	29	3	0.0063	0.0035	0.0098	64.29	35.71	100
CAVI	30	3	0.0123	0.0037	0.016	76.88	23.13	100



### Anexo 5. Peso de 100 semillas.

Peso de 100 semillas (gr)			
	1° Momento	2° Momento	3° Momento
<i>Festuca dolichophylla</i>	0.066	0.072	0.080
<i>Festuca humilior</i>	0.066	0.066	0.071
<i>Calamagrostis vicunarum</i>	0.029	0.033	0.040

### Anexo 6. Tamaño de semillas (cm).

ESPECIE	TAMAÑO DE SEMILLAS (cm)								
	<i>Festuca dolichophylla</i>			<i>Festuca humilior</i>			<i>Calamagrostis vicunarum</i>		
	1°	2°	3°	1°	2°	3°	1°	2°	3°
1	0.70	0.60	0.90	0.70	0.60	0.60	0.55	0.45	0.55
2	1.00	0.90	0.60	0.70	0.70	0.60	0.45	0.45	0.60
3	0.55	0.60	0.95	0.60	0.65	0.50	0.55	0.40	0.55
4	0.55	0.60	0.50	0.60	0.65	0.60	0.60	0.45	0.45
5	0.75	0.80	1.00	0.65	0.60	0.50	0.45	0.50	0.55
6	0.60	0.50	0.85	0.60	0.55	0.65	0.50	0.55	0.50
7	0.60	0.80	0.95	0.70	0.65	0.70	0.55	0.50	0.55
8	0.60	0.65	0.85	0.85	0.60	0.65	0.50	0.45	0.50
9	9.50	0.70	0.90	0.70	0.75	0.50	0.55	0.50	0.55
10	0.65	0.55	0.70	0.70	0.50	0.60	0.50	0.45	0.50
11	1.10	0.60	0.60	0.65	0.70	0.55	0.45	0.45	0.45
12	0.80	0.50	0.75	0.65	0.60	0.60	0.45	0.50	0.55
13	0.65	0.75	0.60	0.60	0.75	0.60	0.40	0.55	0.55
14	0.50	0.60	0.60	0.50	0.70	0.75	0.60	0.50	0.45
15	0.70	0.60	0.85	0.75	0.65	0.70	0.50	0.50	0.50
16	0.75	0.75	1.00	0.70	0.70	0.70	0.55	0.55	0.50
17	0.70	0.50	0.65	0.65	0.65	0.45	0.55	0.50	0.40
18	0.75	0.55	0.70	0.60	0.65	0.50	0.40	0.50	0.55
19	0.60	0.80	0.95	0.70	0.65	0.60	0.45	0.40	0.45
20	0.50	0.70	0.65	0.60	0.65	0.55	0.45	0.50	0.50
21	0.50	0.50	0.70	0.75	0.65	0.50	0.40	0.55	0.55
22	0.75	0.70	1.00	0.60	0.60	0.60	0.50	0.50	0.60
23	0.50	0.60	0.90	0.50	0.60	0.70	0.50	0.55	0.50
24	0.75	0.55	0.70	0.60	0.60	0.65	0.60	0.55	0.50
25	0.65	0.70	0.70	0.75	0.60	0.55	0.60	0.60	0.40

**Continuación**

	TAMAÑO DE SEMILLAS (cm)								
ESPECIE	<i>Festuca dolichophylla</i>			<i>Festuca humilior</i>			<i>Calamagrostis vicunarum</i>		
COSECHA	1°	2°	3°	1°	2°	3°	1°	2°	3°
26	0.65	0.6	0.65	0.65	0.6	0.6	0.55	0.5	0.5
27	0.65	0.65	1	0.5	0.5	0.55	0.45	0.5	0.5
28	0.75	0.55	0.7	0.65	0.6	0.55	0.5	0.5	0.5
29	0.7	0.65	0.9	0.5	0.7	0.5	0.55	0.4	0.55
30	0.6	0.9	0.7	0.65	0.7	0.6	0.6	0.45	0.5
31	0.55	0.65	0.6	0.5	0.6	0.6	0.6	0.5	0.5
32	0.55	0.55	0.8	0.65	0.7	0.6	0.55	0.5	0.55
33	0.75	0.6	0.75	0.7	0.65	0.6	0.45	0.5	0.6
34	0.55	0.6	0.9	0.5	0.45	0.65	0.45	0.45	0.5
35	0.7	0.5	0.6	0.55	0.55	0.7	0.5	0.5	0.4
36	0.6	0.6	0.8	0.5	0.55	0.65	0.5	0.5	0.5
37	0.6	0.5	0.8	0.85	0.65	0.55	0.45	0.5	0.55
38	0.75	0.6	0.6	0.8	0.5	0.65	0.45	0.55	0.5
39	0.65	0.6	0.8	0.45	0.6	0.55	0.45	0.5	0.5
40	0.6	0.7	0.85	0.55	0.75	0.65	0.55	0.55	0.45
41	0.65	0.5	0.7	0.55	0.7	0.6	0.55	0.5	0.55
42	0.6	0.65	0.7	0.65	0.6	0.55	0.5	0.5	0.4
43	0.6	0.75	0.9	0.35	0.5	0.55	0.45	0.5	0.5
44	0.9	0.65	0.65	0.5	0.55	0.6	0.45	0.55	0.45
45	0.7	0.6	0.6	0.7	0.7	0.75	0.45	0.55	0.5
46	0.7	0.6	0.8	0.5	0.65	0.65	0.4	0.5	0.55
47	0.9	0.65	0.75	0.7	0.7	0.6	0.4	0.5	0.5
48	0.7	0.7	0.9	0.5	0.7	0.6	0.5	0.45	0.5
49	0.55	0.55	0.9	0.55	0.6	0.55	0.5	0.5	0.45
50	0.5	0.85	0.75	0.6	0.7	0.55	0.45	0.55	0.5
PROM(cm)	0.843	0.637	0.773	0.62	0.63	0.598	0.497	0.498	0.505
PROM(mm)	8.43	6.37	7.73	6.2	6.3	5.98	4.97	4.98	5.05

**Anexo 7. Porcentaje de germinación y viabilidad.**

		GERMINACIÓN								
ESPECIE		<i>Festuca dolichophylla</i>			<i>Festuca humilior</i>			<i>Calamagrostis vicunarum</i>		
COSECHA		1°	2°	3°	1°	2°	3°	1°	2°	3°
REPETICION	1	30	5	25	25	35	40	40	25	35
	2	5	20	25	35	50	35	35	25	20
	3	20	10	20	30	30	20	35	25	35
	4	20	25	10	20	35	45	20	25	30
PROMEDIO		18.75	15	20	27.5	37.5	35	32.5	25	30
PORCENTAJE		19	15	20	28	38	35	33	25	30

		VIABILIDAD								
ESPECIE		<i>Festuca dolichophylla</i>			<i>Festuca humilior</i>			<i>Calamagrostis vicunarum</i>		
COSECHA		1°	2°	3°	1°	2°	3°	1°	2°	3°
REPETICION	1	40	40	50	20	10	50	60	60	60
	2	20	60	50	10	30	30	50	70	50
	3	50	60	70	10	10	20	60	80	40
	4	10	60	70	20	40	30	50	70	70
PROM (%)		30	55	60	15	23	33	55	70	55

**Anexo 8. Análisis de variancia y prueba de comparación de medias, variable peso de semillas puras (CAVI: C. vicunarum, FEDO: F. dolichophylla, FEHU: F. humilior)**

**Procedimiento GLM**

**Variable dependiente: VR**

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	8	0.00444485	0.00055561	7.39	<.0001
Error	241	0.01812767	0.00007522		
Total corregido	249	0.02257252			

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	VR Media
0.196914	117.4039	0.008673	0.007387

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F	Sig
ESP	2	0.00360838	0.00180419	23.99	<.0001	**
EPO	2	0.00052990	0.00026495	3.52	0.0311	*
ESP*EPO	4	0.00048478	0.00012120	1.61	0.1721	NS

**PUREZA**

**Procedimiento GLM**

**t Tests (LSD) para VR**

Alpha	0.05
Grados de error de libertad	241
Error de cuadrado medio	0.000075
Valor crítico de t	1.96986
Diferencia menos significativa	0.0026
Media armónica de tamaño de celdas	83.21581

**Note:** Cell sizes are not equal.

<b>Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.</b>			
<b>t Agrupamiento</b>	<b>Media</b>	<b>N</b>	<b>ESP</b>
A	0.012529	85	FEDO
B	0.005200	79	CAVI
B			
B	0.004314	86	FEHU

### Procedimiento GLM

#### t Tests (LSD) para VR

<b>Alpha</b>	0.05
<b>Grados de error de libertad</b>	241
<b>Error de cuadrado medio</b>	0.000075
<b>Valor crítico de t</b>	1.96986
<b>Diferencia menos significativa</b>	0.0026
<b>Media armónica de tamaño de celdas</b>	83.33068

**Note:** Cell sizes are not equal.

<b>Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.</b>				
<b>t Agrupamiento</b>		<b>Media</b>	<b>N</b>	<b>EPO</b>
	A	0.009077	83	3
	A			
B	A	0.007264	84	1
B				
B		0.005822	83	2

**Anexo 9. Análisis de variancia y prueba de comparación de medias, variable número de semillas germinadas (CAVI: C. vicunarum, FEDO: F. dolichophylla, FEHU: F. humilior)**

**Procedimiento ANOVA**

Variable dependiente: VR

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	8	76.5555556	9.5694444	3.60	0.0057
Error	27	71.7500000	2.6574074		
Total corregido	35	148.3055556			

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	VR Media
0.516202	30.40705	1.630156	5.361111

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
TRT	8	76.5555556	9.5694444	3.60	0.0057

**GERMINACION**

**Procedimiento ANOVA**

t Tests (LSD) para VR

Alpha	0.05
Grados de error de libertad	27
Error de cuadrado medio	2.657407
Valor crítico de t	2.05183
Diferencia menos significativa	2.3651

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F	Sig
ESP	2	61.0555556	30.5277778	11.49	0.0002	**
EPO	2	1.7222222	0.8611111	0.32	0.7260	NS
ESP*EPO	4	13.7777778	3.4444444	1.30	0.2964	NS

## GERMINACION

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.			
t Agrupamiento	Media	N	ESP
A	6.6667	12	FEHU
A			
A	5.8333	12	CAVI
B	3.5833	12	FEDO

## GERMINACION

### Procedimiento ANOVA

Prueba del rango múltiple de Duncan para VR

Alpha	0.05
Grados de error de libertad	27
Error de cuadrado medio	2.657407

Número de medias	2	3
Rango crítico	1.366	1.435

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.			
Duncan Agrupamiento	Media	N	EPO
A	5.6667	12	3
A			
A	5.2500	12	1
A			
A	5.1667	12	2

**Anexo 10. Análisis de variancia y prueba de comparación de medias, variable número de semillas viables (CAVI: C. vicunarum, FEDO: F. dolichophylla, FEHU: F. humilior)**

**Procedimiento ANOVA**

Variable dependiente: VR

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	8	117.0555556	14.6319444	10.53	<.0001
Error	27	37.5000000	1.3888889		
Total corregido	35	154.5555556			

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	VR Media
0.757369	26.85216	1.178511	4.388889

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
TRT	8	117.0555556	14.6319444	10.53	<.0001

**VIABILIDAD**

**Procedimiento ANOVA**

t Tests (LSD) para VR

Alpha	0.05
Grados de error de libertad	27
Error de cuadrado medio	1.388889
Valor crítico de t	2.05183
Diferencia menos significativa	1.7099

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F	Sig
ESP	2	84.22222222	42.11111111	30.32	<.0001	**
EPO	2	20.05555556	10.02777778	7.22	0.0031	*
ESP*EPO	4	12.77777778	3.19444444	2.30	0.0846	NS



## VIABILIDAD

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.			
t Agrupamiento	Media	N	ESP
A	6.0000	12	CAVI
B	4.8333	12	FEHU
C	2.3333	12	FEDO

## VIABILIDAD

### Procedimiento ANOVA

#### t Tests (LSD) para VR

Alpha	0.05
Grados de error de libertad	27
Error de cuadrado medio	1.388889
Valor crítico de t	2.05183
Diferencia menos significativa	0.9872

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.			
t Agrupamiento	Media	N	EPO
A	4.9167	12	3
A			
A	4.9167	12	2
B	3.3333	12	1

## Anexo 11. Archivo fotográfico.



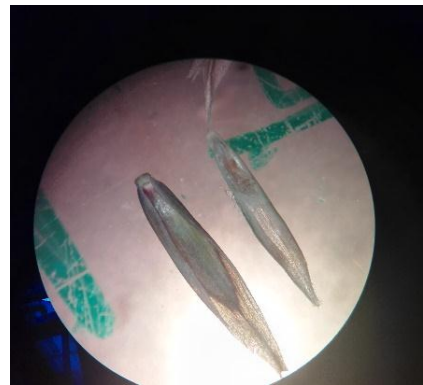
Identificación de plantas



Cosecha de inflorescencias



Estadíos de la inflorescencia



Semilla pura y materia inerte



Plántulas obtenidas



Macollos reproductivos de *Calamagrostis vicunarium*