



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE BOTÁNICA

GERMINACIÓN DE SEMILLAS Y SOBREVIVENCIA DE PLÁNTULAS DE TRES ESPECIES DE *Tillandsia* Y DOS DE *Hechtia*

Violeta Elizalde Castillo

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2014

La presente tesis titulada: **Germinación de semillas y sobrevivencia de plántulas de tres especies de *Tillandsia* y dos de *Hechtia*** realizada por el alumno: **Violeta Elizalde Castillo** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS
BOTÁNICA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



DR. JOSÉ RODOLFO GARCÍA NAVA

ASESORA



DRA. CECILIA BEATRIZ PEÑA VALDIVIA

ASESORA



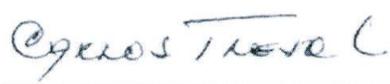
DRA. MA. CARMEN YBARRA MONCADA

ASESOR



DR. OTTO RAUL LEYVA OVALLE

ASESOR



DR. CARLOS TREJO LÓPEZ

GERMINACIÓN DE SEMILLAS Y SOBREVIVENCIA DE PLÁNTULAS DE TRES ESPECIES DE *Tillandsia* Y DOS DE *Hechtia*

Violeta Elizalde Castillo M.C.
Colegio de Postgraduados, 2014

Las bromelias (*Bromelia* spp.) tienen valor ornamental mundialmente y su explotación comercial en México y América va en aumento; sin embargo, su diversidad está amenazada por la deforestación de bosques y selvas, por la extracción ilegal de especímenes, entre otras causas. El objetivo de este estudio es evaluar algunas condiciones que permitan obtener plantas a partir de semillas recolectadas de poblaciones naturales de *Hechtia myriantha*, *H. perotensis*, *Tillandsia limbata*, *T. botterii* y *T. multicaulis*. Se postula que existe una combinación adecuada de factores ambientales, que permiten que las semillas germinen adecuadamente y las plántulas tengan supervivencia estable. Se realizó la prueba de tetrazolio y germinación de semillas de *H. perotensis*; se evaluó la germinación de semillas y supervivencia de plántulas de bromelia (*Tillandsia* spp.) en función de la especie, temperatura y fertilización; la germinación de semillas de *H. myriantha* y supervivencia de plántulas de *H. myriantha* y *T. limbata* en función del tipo de sustrato; la supervivencia de plántulas de *T. limbata*, *T. botterii* y *Hechtia myriantha* en función del género, la especie y la intensidad luminosa. En todos los casos se utilizó un diseño experimental completamente al azar, el análisis de los resultados incluyó pruebas de comparación de medias de Tukey con $\alpha= 0.05$. El protocolo de la prueba topográfica de tetrazolio aplicada a las semillas de *H. perotensis* fue adecuado; la fibra de coco y vermiculita en proporción 3:1, para la supervivencia de las plántulas de *T. limbata* tuvo efectos positivos. La temperatura óptima para la supervivencia de las plántulas de *T. limbata*, *T. botterii* y *H. myriantha* está entre 15 y 25 °C. El uso de solución Steiner al 100 % en plántulas de *T. limbata* y *T. botterii* (con 80 d de supervivencia o menos) no es recomendable.

Palabras clave: supervivencia, germinación, plántula, semilla, tetrazolio.

SEED GERMINATION AND SEEDLING SURVIVAL FOR THREE SPECIES OF *Tillandsia*
AND TWO OF *Hechtia*

Violeta Elizalde Castillo M.C.
Colegio de Postgraduados, 2014

Bromeliads (*Bromelia* spp.) has ornamental value worldwide and their market is increasing on Mexico and America. However, Bromeliads diversity is in danger by the increasing deforest of jungles and forest, illegal market of plants, among other reasons. The aim of this research was to evaluate some environmental conditions that allow obtain plants from seeds recollected from natural populations of *Hechtia myriantha*, *H. perotensis*, *Tillandsia limbata*, *T. botterii* y *T. multicaulis*. The hypothesis was that there is one combination of environmental factors that allow seed germination and a steady seedling survival. It was assessed: germination and the tetrazolium viability test of seed of *H. perotensis*, seed germination and seedling survival for *Tillandsia* spp. affected by specie, temperature and fertilization. Also, seed germination of *H. myriantha* and seedling survival of *H. myriantha* and *T. limbata* affected by the type of substrate and the seedling survival of *T. limbata*, *T. botterii* and *Hechtia myriantha* affected by genera, specie and light intensity. In each experiment was used a completely randomized design and the Tukey test ($\alpha= 0.05$). The concentration of 0.5 tetrazolium salt was enough to develop the test for *H. perotensis* seeds. The coconut fiber and vermiculite (3:1) was positive for the survival of *T. limbata*. The adequate temperature for the survival of seedlings of *T. limbata*, *T. botterii* and *H. myriantha* was between 15 and 25 °C. The use of Steiner solution (100%) was not successful on plants of *T. limbata* and *T. botterii* in seedlings with 80 days of survival.

Keywords: survival, germination, seedling, seed, tetrazolim.

DEDICATORIA

A mi familia Joel Elizalde Miranda, María Teodula Castillo Rodríguez y Azucena Elizalde Catillo, por estar ahí en cada tropiezo y en cada acierto de mi vida, todo lo positivo que tengo es gracias a ustedes, son mi tesoro, los AMO.

Al ángel que Dios me prestó, para apoyarme en etapas importantes de mi vida, quien hizo que crea en mí. José Manuel Arcos Pérez, siempre te llevaré en mi corazón y tendré en mente tus palabras de aliento, en todo momento de duda.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo brindado durante mis estudios de posgrado.

Al Dr. José Rodolfo García Nava, Dra. Cecilia B. Peña Valdivia, Dra. Ma. Carmen Ybarra Moncada, Dr. Otto Raúl Leyva Ovalle y Dr. Carlos Trejo López integrantes de mi consejo particular; por su comprensión, confianza, colaboración, apoyo, paciencia, correcciones y sugerencias que hicieron posible concluir esta tesis.

Al Colegio de Postgraduados, sus instalaciones y profesores que ayudaron a mi formación académica.

Al Postgrado de Botánica, Genética y Producción de Semillas por las facilidades brindadas en el trabajo de laboratorio.

Al M.C. Adrián Hernández Livera, M.C. Ana Bertha, Sra. Irma, Sra. Leti, Sr. Álvaro, Sr. Bárbara, Sr. Juan por el apoyo y facilidades otorgadas. Al M.C. Gerardo Torres por las semillas de bromelias facilitadas y la aportación intelectual.

A mis compañeros y amigos: Griselda, Fátima, Naybi, Regina, Saraí, Elizabeth, Yaredí, Karina, Gerardo, Eduardo, Celi, Juan Manuel, Erasmo, Esther...etc. Por brindarme su amistad y confianza.

A José Manuel; por tu amor, paciencia, compañía, apoyo, por formar parte fundamental de este proyecto, por creer en mí, más de lo que yo lo hago, y por hacer de mis metas, también las tuyas.

A Dios porque a pesar de las tristezas, me da fortaleza y me llena de bendiciones.

CONTENIDO

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1.1 LITERATURA CITADA.....	3
CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
2.1 Distribución.....	5
2.2 Generalidades de las bromelias.....	6
2.3 Género <i>Hechtia</i>	7
2.4 <i>Hechtia perotensis</i>	7
2.5 Género <i>Tillandsia</i>	7
2.6 <i>Tillandsia limbata</i> Schltldl.....	8
2.7 LITERATURA CITADA	9
CAPÍTULO III. GERMINACIÓN DE SEMILLAS Y SOBREVIVENCIA DE PLÁNTULAS DE <i>Hechtia myriantha</i>, <i>Tillandsia limbata</i>, <i>T. botterii</i>, <i>T. multicaulis</i>.....	11
3.1 RESUMEN	11
ABSTRACT	12
3.2 INTRODUCCIÓN.....	13
3.3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
3.3.1 Diseño experimental	17
3.4 RESULTADOS	18
3.4.1 Dimensiones de las semillas	18
3.4.2 Germinación y sobrevivencia	19
3.5 DISCUSIÓN.....	21
3.6 CONCLUSIÓN	21
3.7 LITERATURA CITADA	22
CAPÍTULO IV. PRUEBA TOPOGRÁFICA DE TETRAZOLIO Y GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE <i>Hechtia perotensis</i>	24
4.1 RESUMEN	24
ABSTRACT	25
4.2 INTRODUCCIÓN.....	26
4.3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
4.3.1 Establecimiento de la prueba topográfica de tetrazolio	27
4.3.2 Diseño experimental	29
4.3.3 Establecimiento de la prueba de germinación con nitrato de potasio y ácido giberélico	29
4.4 RESULTADOS	30
4.5 DISCUSIÓN.....	32
4.6 CONCLUSIONES.....	34
4.7 LITERATURA CITADA	35
CAPÍTULO V. GERMINACIÓN DE SEMILLAS Y SOBREVIVENCIA DE PLÁNTULAS de BROMELIA (<i>Tillandsia</i> spp.) EN FUNCIÓN DE LA ESPECIE, TEMPERATURA Y FERTILIZACIÓN	37
5.1 RESUMEN	37
ABSTRACT	38
5.2 INTRODUCCIÓN.....	39
5.3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	40
5.3.1 Materiales.....	40

5.3.2 Métodos.....	40
5.3.2 Diseño experimental	42
5.4 RESULTADOS	44
5.5 DISCUSIÓN.....	51
5.6 CONCLUSIONES.....	53
5.7 LITERATURA CITADA.....	54
CAPÍTULO VI. GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE <i>Hechtia myriantha</i> Y SOBREVIVENCIA DE PLANTULAS DE <i>H. myriantha</i> Y <i>Tillandsia limbata</i> EN FUNCIÓN DEL TIPO DE SUSTRATO.....	56
6.1 RESUMEN	56
ABSTRACT	58
6.2 INTRODUCCIÓN.....	59
6.3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	61
6.3.1 Diseño experimental	63
6.4 RESULTADOS	64
6.5 DISCUSIÓN.....	70
6.6 CONCLUSIONES.....	71
6.7 LITERATURA CITADA.....	72
CAPÍTULO VII. SOBREVIVENCIA DE PLÁNTULAS DE <i>Tillandsia limbata</i>, <i>T. botteri</i> Y <i>Hechtia myriantha</i> EN FUNCIÓN DEL GÉNERO, LA ESPECIE Y LA INTENSIDAD LUMINOSA.....	73
7.1 RESUMEN	73
ABSTRACT	74
7.2 INTRODUCCIÓN.....	75
7.3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	76
7.3.1 Germinación de semillas de <i>Tillandsia</i> y <i>Hechtia</i>	76
7.3.2 Sistema de crecimiento a utilizar para evaluar sobrevivencia en <i>Tillandsia limbata</i> y <i>T. botteri</i>	76
7.3.3 Sustrato a utilizar para evaluar sobrevivencia en <i>H. myriantha</i>	77
7.3.4 Diseño experimental	78
7.4 RESULTADOS	79
7.5 DISCUSIÓN.....	82
7.6 CONCLUSIÓN	82
7.7 LITERATURA CITADA.....	83
CAPÍTULO VIII. DISCUSIÓN GENERAL Y RECOMENDACIONES	84
8.1 LITERATURA CITADA.....	88

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Capítulo VII, Tratamientos evaluados.....	77
--	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. (a) Semilla germinada a los 8 d y (b) plántula de 42 d de edad de <i>T. limbata</i>	17
Figura 3.2. Semillas y cápsulas de: <i>Tillandsia multicaulis</i> (a); <i>T. limbata</i> (b); <i>T. botterii</i> (c) y <i>H. myriantha</i> (d).....	18
Figura 3.3. Porcentaje de germinación de semillas de <i>Tillandsia limbata</i> , <i>T. botterii</i> , <i>T. multicaulis</i> y <i>H. myriantha</i> , después de 15 d a 25 °C y fotoperiodo neutro con irradiancia de 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	19
Figura 3.4. Supervivencia de plántulas de: <i>T. limbata</i> , <i>T. botterii</i> , <i>H. myriantha</i> , las plántulas se obtuvieron por germinación de las semillas a 25 °C e intensidad luminosa de 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las barras sobre los valores representan el error estándar, n= 16 unidades experimentales.....	20
Figura 4.1. Corte horizontal encima del embrión de una semilla de <i>Hechtia perotensis</i>	27
Figura 4.2. Embrión, de <i>Hechtia perotensis</i> extraído de una semilla	28
Figura 4.3. Embriones de <i>Hechtia perotensis</i> (a) con viabilidad baja; (b) con viabilidad máxima; (c y d) inviábiles o no viables.....	28
Figura 4.4. Plántulas normales de <i>Hechtia perotensis</i>	29
Figura 4.5. Porcentaje de semillas sin embrión (SSE), con embriones no viables (SENV), con embriones de viabilidad baja (SEBV) y con embriones viables (SEV) en los tratamientos: T1= tetrazolio 0.2 %, T2= tetrazolio 0.5 % y T3= tetrazolio 1.0%. Cada columna es el promedio de seis repeticiones, con 100 semillas cada una, las barras sobre las columnas representan el error estándar, n= 18 unidades experimentales.....	30

Figura 4.6. Porcentaje de plántulas normales (PN), plántulas anormales (PAN) y semillas no germinadas (S) obtenidos después de 15 de germinación a 25 °C, con intensidad luminosa de 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fotoperiodo neutro y con agua (testigo), KNO_3 al 0.2 % o 500 ppm de AG_3 en soluciones acuosas. Cada columna representa el promedio de seis repeticiones, con 100 semillas cada una, y las barras sobre las columnas representan el error estándar, n= 18 unidades experimentales.....	31
Figura 5.1. Tratamientos, repeticiones y arreglo de las unidades experimentales para la cuantificación de la germinación de semillas de <i>T. limbata</i> y <i>T. botterii</i> dentro de la germinadora.....	40
Figura 5.2. Medición y trasplante de plántulas de <i>Tillandsia limbata</i> con 80 d de sobrevivencia, mantenidas en cajas petri.....	41
Figura 5.3. Plántulas de <i>Tillandsia limbata</i> colocadas en con tul suspendido y cubiertas con una bolsa plástica transparente, y a 15 °C, fotoperiodo neutro e intensidad luminosa de 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	42
Figura 5.4. Germinación de semillas de <i>Tillandsia limbata</i> (E1) y <i>T. botterii</i> (E2), a 15 °C (a) y 25 °C (b) con fotoperiodo neutro e intensidad luminosa de 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las barras sobre los puntos representan el error estándar, n= 20 unidades experimentales.	44
Figura 5.5. Sobrevivencia de plántulas de <i>Tillandsia limbata</i> (E1) y <i>T. botterii</i> (E2), a 15 °C (a) y 25 °C (b) con fotoperiodo neutro e intensidad luminosa de 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las barras sobre los puntos representan el error estándar, n= 20 unidades experimentales.	45
Figura 5.6. Sobrevivencia de plantas con 80 d de edad en los tratamientos (T): <i>Tillandsia botterii</i> a 15 °C regadas con agua (T1) con solución de Steiner (T2) (a); <i>T. limbata</i> a 15 °C regadas con agua (T3) con solución de Steiner (T4) (a); <i>T. botterii</i> a 25 °C regadas con agua (T5) con solución de Steiner (T6)(b); <i>T. limbata</i> a 25 °C regadas con agua (T7) con solución de Steiner (T8) (b). Las barras sobre los puntos representan el error estándar, n= 32 unidades experimentales.....	46
Figura 5.7. Altura (A1) y diámetro (D1) de plántulas de <i>Tillandsia botterii</i> de 80 d de edad y altura (A2) y diámetro (D2) de las plántulas de 104 d de edad: mantenidas a 15 °C y riego con agua (a) o con solución Steiner (b), a 25 °C y riego con agua (c) o solución Steiner (d). Las barras sobre las columnas representan el error estándar, n= 32 unidades experimentales.....	47

Figura 5.8. Altura (A1) y diámetro (D1) de plántulas de *Tillandsia limbata* de 80 d de edad y altura (A2) y diámetro (D2) de plántulas de 104 d de edad: mantenidas a 15 °C y riego con agua (a) o a 15 °C con solución (b), a 25 °C con riego con agua (c) o con solución Steiner(d). Las barras sobre las columnas representan el error estándar, n= 32 unidades experimentales..48

Figura 5.9. Supervivencia de plántulas de *T. botterii* (E1) y *T. limbatai* (E2), a 15 °C (a) y 25 °C (b) con fotoperiodo neutro e intensidad luminosa de $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Cada punto es el promedio de cinco repeticiones, las barras sobre los puntos representan el error estándar, n= 20 unidades experimentales49

Figura 5.10. Tiempo medio de supervivencia de plántulas de : *T. Limbata* y *T. botterii* a 25 °C (a) y 15 °C (b), con fotoperiodo neutro e intensidad luminosa de $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Cada columna representa el promedio de cinco repeticiones. Las barras sobre las columnas representan el error estándar, n= 20 unidades experimentales.....50

Figura 6.1. Plántulas de *H. myriantha* en cámaras con ambiente controlado a 25 °C, fotoperiodo neutro intensidad luminosa de $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en las charolas con los diferentes sustratos a una temperatura a los 15 días de instalado el experimento.....62

Figura 6.2. (a) Germinación de semillas de *Tillandsia limbata* en cajas petri. (b) Establecimiento de las plántulas de *T. limbata* en cada uno de los sustratos a 25° C, fotoperiodo neutro e intensidad luminosa de $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$63

Figura 6.3. Porcentaje de germinación de *Hechtia myriantha* a los 15 d, 25°C, fotoperiodo neutro e intensidad luminosa de $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en los siguientes Tratamientos (T): T1= fibra de coco y vermiculita (1:3); T2 = suelo de origen calizo; T3= fibra de coco y suelo de origen calizo (1:1); T4= fibra de coco y suelo de origen calizo (3:7); T5= fibra de coco y suelo de origen calizo (1:4). Las barras sobre las columnas representan el error estándar, n= 20 unidades experimentales.....64

Figura 6.4. Supervivencia de *Hechtia myriantha* a 25°C, fotoperiodo neutro e intensidad luminosa de $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en los siguientes Tratamientos (T): T1= fibra de coco, vermiculita (1:3); T2 = suelo de origen calizo; T3= fibra de coco y suelo de origen calizo (1:1); T4= fibra de coco y suelo de origen calizo (3:7); T5= fibra de coco y suelo de origen calizo (1:4). Las líneas sobre los puntos representan el error estándar, n= 20 unidades experimentales.65

Figura 6.5. Tiempo medio de supervivencia de *H. myriantha* en los siguientes tratamientos (T): T1= fibra de coco, vermiculita (1:3); T2 = suelo de origen calizo; T3= fibra de coco y suelo de origen calizo (1:1); T4= fibra de coco y suelo de origen calizo (3:7); T5= fibra de coco y suelo

de origen calizo (1:4). Las barras sobre las columnas representan el error estándar, n= 20 unidades experimentales.66

Figura 6.6. Germinación de *Tillandsia limbata*, en 20 cajas petri con 30 semillas cada caja, a los 10 días a 25°C, fotoperiodo neutro e intensidad luminosa de $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$67

Figura 6.7. Supervivencia de plántulas de *Tillandsia limbata* en los siguientes Tratamientos (T): T1= Ciprés, T2= fibra de coco y vermiculita (1:3), T3= fibra de coco y vermiculita (3:1). Las barras sobre los puntos representan el error estándar, n= 12 unidades experimentales.68

Figura 6.8. Tiempo medio de supervivencia de *Tillandsia limbata* en diferentes tratamientos (T): T1= Ciprés, T2= fibra de coco y vermiculita (1:3), T3= fibra de coco y vermiculita (3:1). Las barras sobre los puntos representan el error estándar, n= 12 unidades experimentales.69

Figura 7.1 Conglomerado de paja utilizado para crecer y evaluar la supervivencia de plántulas de *Tillandsia limbata*.....77

Figura 7.2. Porcentaje de germinación, a los 15 d de embeber las semillas, a 25°C y $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de: *Tillandsia limbata*, *T. botterii* y *Hechtia myriantha* . Las barras sobre las columnas representan el error estándar, n= 12 unidades experimentales.....79

Figura 7.3. Supervivencia de plántulas, de 20 d de edad, de: *Tillandsia limbata* (E1), *T. botterii* (E2) y *Hechtia myriantha* (E3) con intensidad luminosa de $1.8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (a), intensidad luminosa de $4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (b), intensidad luminosa de $7 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (c) e intensidad luminosa de $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (d). Las barras sobre los puntos representan el error estándar, n= 36 unidades experimentales80

Figura 7.4. Tiempo medio de supervivencia de plántulas de: *T. limbata* (E1), *T. botterii* (E2) y *H. myriantha* (E3), con intensidad luminosa de $1.8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (a), $4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (b), $7 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (c) y $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (d). Las barras sobre los puntos representan el error estándar, n= 36 unidades experimentales.81

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

Las plantas denominadas bromelias (*Bromelia* spp.), orquídeas (*Orchidaceae*), helechos (*Pteridium* spp.) y las de la familia Gesneriáceae constituyen el componente epífita vascular principal y representan la diversidad biótica en formaciones vegetales tropicales numerosas (Gentry y Dodson, 1987).

Numerosas especies de bromelias tienen valor ornamental mundialmente. Debido a la belleza de su follaje, flores, facilidad de su cultivo y resistencia a numerosas plagas. Sin embargo, en México las especies nativas que se aprovechan con este fin son pocas (Mondragón *et al.*, 2011).

La explotación comercial de las bromelias en México y América va en aumento. En México, del grupo de las bromelias, el cultivo de piña (*Annanas comosus*) y pita (*Aechmea magdalenae*), para producción de fibra es de importancia agroindustrial (Edouard, 2003). En relación con las bromelias ornamentales, en la región del bosque de montaña tropical del centro de Veracruz, México, los artesanos locales cosechan varias especies de *Tillandsia* (Bromeliaceae) y *Dasyilirion acrotriche* Schiede (Nolinaceae) para la elaboración de adornos religiosos (arcos florales), que se colocan en las iglesias y capillas (Espejo *et al.*, 1994). *Hechtia montana* se aprovecha para consumo humano en Sonora (Felger y Yetman, 2000) y *Tillandsia usneoides* L. se utiliza en São Paulo, Brasil, como bioindicador de la contaminación atmosférica (Figueiredo *et al.*, 2003).

Algunas especies de la familia Bromeliaceae están en riesgo de extinción en México, como consecuencia de la pérdida de la vegetación, ya que más de un tercio de los bosques y selvas ha sido deforestados (Ricker *et al.*, 2007), y por la extracción ilegal de especímenes de su hábitat (Flores-Palacios y Valencia-Díaz 2007), entre otras causas.

En la norma oficial mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 se enlistan 21 especies de bromelias en las categorías “amenazadas y sujetas a protección especial”, 17 de ellas son *Tillandsias* (www.profepa.gob.mx). Las especies de *Hechtia* se encuentran representadas escasamente en las colecciones institucionales mexicanas y extranjeras, debido principalmente a la dificultad para su recolección, por lo agresivo de las hojas espinosas, el tamaño grande de las plantas y su período de floración corto; además, las plantas son dioicas y los ejemplares

recolectados generalmente corresponden a un solo sexo (Espejo *et al.*, 2004). Debido a lo anterior es necesario incrementar el conocimiento de las formas diversas de conservación de las bromelias y del aprovechamiento redituable de esta familia, ya que su importancia comercial va aumentando.

Las bromelias son clasificadas en dependencia de su forma de reproducción en: xenógamas obligadas por ser dioicas, como *Hechtia schotti* Baker (Ramírez *et al.*, 2008), hermafroditas pero autoincompatibles, como *Tillandsia streptophylla* (Ramírez *et al.*, 2009), y xenogamia y autogamia que presentan varios sistemas de polinización, como *Tillandsia desyliriifolia* (Ramírez *et al.*, 2004). En general la dispersión de las semillas es por zoocoria y anemocoria. En algunos casos, en los géneros *Hechtia* y *Pitcairnia*, las semillas no tienen apéndices conspicuos o los tienen muy reducidos, por lo que tienen capacidad limitada de dispersión (Ramírez *et al.*, 2004).

Así, como muchas plantas se originan a partir de semillas, varias especies de la familia como *B. serra* y *B. balansae*, producen estolones que les permiten crecer y formar colonias en poco tiempo; otras producen rosetas o hijuelos axilares o basales que forman macollos de varias rosetas, como en muchas epifitas de *Tillandsia* (Mondragon *et al.*, 2011). Estas características reproductivas y las de diseminación que presenta la familia Bromeliaceae crean dificultades durante la polinización, germinación y sobrevivencia. Esto, a la vez, genera pérdida de la diversidad genética de las especies y por la reproducción asexual mínima el riesgo de multiplicación de las bromelias solamente por clones incrementa. Lo anterior se agrava por la sobreexplotación de las poblaciones naturales.

El presente estudio se desarrolló para evaluar algunas condiciones que permitan obtener plantas a partir de semillas recolectadas de poblaciones naturales de *Hechtia myriantha*, *Tillandsia limbata*, *T. botterii* y *T. multicaulis*. Esta información será complementaria a la de la literatura especializada que incluye aspectos relacionados de la germinación, la distribución, la diversidad, la polinización, los usos y algunos otros aspectos de la familia Bromeliaceae; pero, pocos se enfocan a las condiciones óptimas para la sobrevivencia de las plántulas obtenidas por semilla. La hipótesis fue que existe una combinación adecuada de factores ambientales, como temperatura, luz y sustrato, que permiten que las semillas germinen adecuadamente y las plántulas tengan supervivencia estable.

1.1 LITERATURA CITADA

- Edouard, F. 2003. El mercado de la fibra pita (*Aechmea magdalanae*) en México. United Nations Environment Programme, World Conservation Monitoring Centre. 30 p.
- Espejo, S.A.; López, F.A.R.; Ramírez, M.I.; Holst, B K.; Luther, H.E.; Till, W. 2004. Checklist of Mexican Bromeliaceae with notes on species distribution and levels of endemism. *Selbyana*. 86 p.
- Espejo, S.A.; Ramírez, I.; Cuevas, N. 1994. Diccionario Mítico-mágico del Estado de Veracruz. Gobierno del Estado de Veracruz-Llave, Xalapa, Mexico. 20 p.
- Felger, S.R.; Yetman, D. 2000. Roasting the Hechtia out of it: The use of *Hechtia montana* (Bromeliaceae) as food plant in Sonora, México. *Economic Botany* 54(2):229-233.
- Figueiredo, A.M.G.; Alcalá, A.L.; Ticianelli, R.B.; Domingo, M.; Saiki, M. 2003. The use of *Tillandsia usneoides* L. as bioindicator of air pollution in São Paulo, Brazil. *Journal of Radio analytical and Nuclear Chemistry* 259(1):59-63.
- Flores, P.A.; Valencia, D.S. 2007. Local illegal trade reveals unknown diversity and involves a high species richness of wild vascular epiphytes. *Biology Conservation* 136(1):372-387.
- Gentry, A.H.; Dodson C.H. 1987. Diversity and biogeography of neotropical vascular epiphytes. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 74(1):205-233.
- Mondragón, Ch.D.M.; Ramírez. M.I.M.; Flores, C.M.; García, F.J.G. 2011. La familia bromeliaceae en México. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México. 98 p.
- Ramírez, M.I.M.; Chi-May, F.; Carnevali, G.; May- Pat F. 2009. It takes two to tango: self-incompatibility in the bromeliad *Tillandsia streptophylla* (Bromeliaceae) in Mexico. *Biología Tropical* 57(3):761-770.
- Ramírez, M.I.M.; Fernández C. G. C.; May-Pat F. 2008. Reproductive biology of *Hechtia schotti* Baker, a dioecious Bromeliaceae. *Biología Tropical* 56(1):279- 289.
- Ramírez, M.I.M.; Fernández C.G.C.; Chi- May, F. 2004. Portraits of *Bromeliaceae* from the Mexican Yucatan Peninsula: *Tillandsia dasylyriifolia* Baker: Taxonomy and reproductive biology. *Journal Bromeliacea Society* 54(3):112-121.
- Ricker, M.; Ramirez, K.L.; Ibarra, M G., Martínez, E.; Ramos, C.; González, M.G., Gómez, R.G.; Palacio, P. P.J L.; Hernández, H.M. 2007. Optimizing conservation of forest

diversity: a country-wide approach in Mexico. *Biodiversity Conservation* 16(1):1927-1957.

Fuentes electrónicas

Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 Disponible en:

www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/435/1/NOM_059_SEMARNAT_2010.pdf Consultado el 19/08/2013.

CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Distribución

Se han descrito alrededor de 3,000 especies de la familia de las bromelias, la mayoría se localiza en zonas tropicales y subtropicales (Luther, 2004). A la fecha, 342 especies se han identificado en México (Espejo *et al.*, 2004).

De acuerdo con Arellano (2002) la mayor diversidad de bromelias en el país se localiza en el estado de Oaxaca; se encuentran registradas 161 especies de 19 géneros. Según Espejo *et al.* (2004) existen 135 especies y 15 géneros en 171 de los 570 municipios oaxaqueños. Hay diferencias entre las fuentes bibliográficas y no se cuenta con un inventario completo; las bromelias de Oaxaca son una porción amplia de la riqueza florística de México, pues 30 especies endémicas de este estado están reportadas y 73 en el territorio mexicano completo (Espejo *et al.*, 2004).

En los géneros *Tillandsia*, *Hechtia*, *Piticaria* y *Catopsis* se encuentran concentradas poco más de 80 % de las especies de bromelias reportadas para Oaxaca. *Tillandsia* es el más diverso y más ampliamente distribuido; muchas de sus especies tienen inflorescencias vistosas y crecen sobre los árboles, algunas se desarrollan sobre rocas y otras en el suelo (Miranda *et al.*, 2007).

En Oaxaca se encuentran 12 especies de *Hechtia*; son terrestres o rupícolas y poseen bordes aserrados en sus hojas como adaptación a condiciones de sequía, se distribuyen en selvas y bosques de encino de los distritos de Cuicatlán, Teotitlán, Etna, Centro, Tlacolula, Yautepec, Tehuantepec y Juchitán (Miranda *et al.*, 2007).

Tillandsia limbata Schltdl. está localizada en bosques tropicales caducifolios y en encinares húmedos del noreste de Querétaro (400 a 900 msnm); florece entre marzo y mayo; es endémica de San Luis Potosí, Querétaro, Hidalgo, Puebla y Veracruz. Se considera en peligro de desaparecer (Espejo *et al.*, 2010).

Del género *Catopsis* se han registrado 11 especies; son comunes en los bosques de encino, de pino y mesófilos de las sierras del estado, principalmente en Miahuatlán, Tehuantepec, Juchitán, Ixtlán y Tuxtepec; además, 11 especies de *Pitcairnia* se han identificado porque se desarrollan en las condiciones húmedas y sombrías de las selvas y de bosques

mesófilos de los distritos de Tuxtepec, Juchitán y Pochutla, Oaxaca, en estos sitios también se ha documentado la presencia de los géneros *Werauhia* y *Bromelia* (Miranda *et al.*, 2007).

2.2 Generalidades de las bromelias

Las bromelias se encuentran en tipos diversos de vegetación del país: pinares, encinares, bosques húmedos, matorrales y selvas. Las bromelias de hojas verdes crecen en lugares húmedos, mientras que las de hojas grises se localizan en sitios más secos y su desarrollo se favorece por ventilación adecuada (Miranda *et al.*, 2007).

Las bromelias establecen relaciones con algunos animales, principalmente con los insectos, las ranas y los reptiles que viven en sus hojas y cuyos desechos también son fuente de nutrientes para ellos. En el caso de *Tillandsia butzii* Mez la relación de ayuda mutua es con las hormigas (*Camponotus* spp. y *Solenopsis* spp.) que habitan en las cámaras internas del pseudobulbo de las bromelias (Miranda *et al.*, 2007).

Las epífitas vasculares son importantes en los ecosistemas porque capturan agua y minerales del ambiente, participan activamente en el ciclo de nutrientes y la productividad de los bosques. Uno de los grupos de plantas de epífitas vasculares más importantes es la familia Bromeliaceae (Bogh, 1992), cuyas especies poseen hojas con vainas que se sobrelapan entre sí y permiten la creación de una estructura equivalente a un tanque, denominado fitotelmata, en la que se retienen fluidos; además, producen hojarasca que se transforma en el recurso hídrico principal y de nutrientes para los organismos asociados a ellas (Thorne *et al.*, 1996).

Las bromelias tipo tanque mantienen reservas de agua durante todo el año, por lo que pueden sostener cadenas tróficas complejas que involucran varios tipos de organismos, como bacterias, algas, musgos, otras plantas vasculares, protozoos, hongos, invertebrados y algunos vertebrados (Laessle, 1961). Las bromelias se benefician de esta asociación biótica porque pueden asimilar nutrientes provenientes de la descomposición de la hojarasca acumulada o de la muerte de los organismos asociados, mientras que los animales asociados usan la planta como refugio y el detritus acumulado representa su fuente de nutrientes (Benzing, 1990).

Las bromelias fitotelmatas pueden tener nutrición del tipo dendrófila o anemófila, según el origen de los nutrientes que absorben. Las bromelias dendrófilas toman los nutrientes lixiviados de los árboles y de organismos descomponedores, como oligoquetos (Annelida) y escítidos o helódidos (Coleoptera). Las bromelias anemófilas absorben los nutrientes

transportados por el viento y compiten con las algas por los mismos, por esto contienen organismos invasivos de algas, como ostrácodos (Crustacea) y quironómidos (Diptera) (Frank, 1983).

2.3 Género *Hechtia*

Las plantas de este género son terrestres, en su mayoría con pétalos de color blanco, más raramente con pétalos azulados, lila, verde, rojo o amarillo (Ramírez *et al.*, 2008); son plantas arrosietadas, con hojas verdes a grisáceas, a veces con tintes rojizos o amarillentos, tienen márgenes espinosos a serrados, ápice pungente, inflorescencia terminal o lateral, paniculada a racemosa, a veces con las ramas reducidas y capituliformes, flores polísticas, unisexuales, raramente perfectas y unisexuales en el mismo individuo (*H. gayorum*), usualmente fragantes; es uno de los taxa con representación escasa e incompleta menor de la familia en las colecciones de herbario debido su dioecia. Del género *Hechtia* se han registrado 53 como endémicas de México de las 56 especies que comprende el género; siete de ellas están presentes en el bajío y regiones adyacentes, como Aguascalientes, San Luis Potosí, Guanajuato, Querétaro e Hidalgo (Espejo *et al.*, 2010).

2.4 *Hechtia perotensis*

Las plantas de *Hechtia perotensis* son hierbas arrosietadas, terrestres, en floración pueden alcanzar 2 m de altura. Las rosetas son globosas, compactas, desde 50 cm de altura, 40 cm de diámetro, pueden formar grupos de 50 rosetas o más en una colonia; tienen hojas numerosas, rígidas, erectas a ascendentes, pardas, anchamente ovadas a subcuadradas, de 3.5 a 5.5 cm de longitud, de 3.5 a 5.5 cm de anchura, espinosas en el margen. Las inflorescencias son terminales, pero en las rosetas maduras aparentan ser laterales (Espejo *et al.*, 2007).

2.5 Género *Tillandsia*

Las plantas del género *Tillandsia* son herbáceas arrosietadas, hermafroditas, generalmente epífitas con tallos cortos, inconspicuos, raramente alargados; sus hojas están dispuestas en una roseta basal o en fascículos, o distribuidas a lo largo del tallo, son verdes a verdes grisáceas; la inflorescencia es terminal, raramente lateral, pedunculada. Este género lo forman cerca de 560 especies (Luther, 2006), todas americanas. De las 200 registradas en México, 31 están presentes en el Bajío (Espejo *et al.*, 2004).

2.6 *Tillandsia limbata* Schltdl

Los nombres comunes de *Tillandsia limbata* son: ajskle, ehtiil k' ok om wits, gallitos, piña, tencho. Las plantas de esta especie son epífita, arrosetada, la flor pueden alcanzar 75 a 100 cm de altura, las rosetas de tipo tanque, de hasta 70 cm de diámetro en su parte más ancha, son solitarias; las hojas son numerosas, las vainas son pardas a pardas claras en ambas superficies, las láminas son verdes; la inflorescencia es terminal, con tres a nueve espigas, pedúnculo de color magenta a rosado, cilíndrico, robusto, de 30 a 60 cm de largo, de 4.5 a 7 mm de diámetro, cubierto parcial o totalmente por las vainas de las brácteas; las brácteas del pedúnculo son foliáceas, las brácteas florales son de color magenta oscuro a color vino o casi negras, verdes hacia el ápice (Espejo *et al.*, 2010). *Tillandsia limbata* se confunde frecuentemente con *T. makoyana*, sobre todo en material herborizado; sin embargo, se distingue por presentar las brácteas de la inflorescencia de color magenta a rosado y los pétalos blancos, en tanto que *T. makoyana* presenta las brácteas de color escarlata y los pétalos violáceos a violáceos pálidos (Espejo *et al.*, 2010).

2.7 LITERATURA CITADA

- Arellano, M. 2002. Las Bromeliaceae del estado de Oaxaca. Riqueza Florística y potencial ornamental. Tesis de licenciatura. Centro Regional Universitario del Sureste de la Universidad Autónoma Chapingo, Oaxaca. pp.135.
- Benzing, D.H. 1990. Vascular epiphytes. General biology and related biota. Cambridge University Press, Cambridge. 345 p.
- Bogh, A. 1992. Composicion and distribution of the vascular epiphyte floral of an Ecuatorian montane rain forest. *Selbyana* 13: 25-34.
- Espejo, S. A.; Lopez, F. A. R.; Ramírez M.I.; Holst, B.K.; Luther, H.E.; Till, W. 2004. Checklist of Mexican Bromeliaceae with notes on species distribution and levels of endemism. *Selbyana* 25(1):86.
- Espejo, S. A.; López, F. A. R.; Ramírez M.; Martínez, C.N. 2007. Dos nuevas especies de *Hechtia* (Bromeliaceae) de México. *Acta Botánica Mexicana* 78(1):97-109
- Espejo, S. A.; López F.A.R.; Ramírez, M. I. 2010. Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, Departamento de Biología, Herbario Metropolitano, México, D.F. y Centro de Investigaciones Científicas de Yucatán , A.C. Herbario CICY, Mérida Yucatán. 142 p.
- Frank, J.H, 1983. Bromeliar phytitelmata and their biota, especially mosquitos. En Frank, H.; Lounibos, P.L. (Ed.) *Phytotemplata: terrestrial plants as hosts of aquatic insects communities*. New Jersey. pp.101 -128
- Laessle, A.M. 1961. A micro- limnological study of jamaica bromeliad. *Ecology* 42:499-517.
- Luther, H. 2004. An Alphabetical list of Bromeliad binomials, Sarasota, Estados Unidos, Bromelias Society International, 9ª edición. 144 p.
- Luther, H. 2004. An Alphabetical list of Bromeliad binomials, 9ª edición, Bromelias Society International. Sarasota, Florida, USA. 110 p.
- Luther H., 2006. An alphabetical list of bromeliad binomials. 10a edición. Bromeliad Society International. Sarasota, Florida, USA. 123 p.
- Miranda, J.M.E.; Arellano, M.J.J.; Salazar, A.B.Z.; Hernández, M.F.; Quero, C.R.; Pérez, S.L. 2007. Bases para el manejo comunitario de Bromelias ornamentales. Grupo Autónomo para la Investigación A.C. Oaxaca, México. 112 p.

- Ramírez, M.I.M.; Chi-May, F.; Fernández C.G.C.; May, P.F. 2008. Reproductive biology of *Hechtia schottii* a dioecious Bromeliaceae, in México. *Revista de Biología Tropical* 56(1):279-289
- Thorne, B.L.; Haverty, M.L.; Benzing D. H. 1996. Associations between termites and bromeliads in two dry tropical habitats. *Biotropica* 28(1):781 – 785.

CAPÍTULO III. GERMINACIÓN DE SEMILLAS Y SOBREVIVENCIA DE PLÁNTULAS DE *Hechtia myriantha*, *Tillandsia limbata*, *T. botterii*, *T. multicaulis*

3.1 RESUMEN

Las bromelias son importantes en los ecosistemas; sin embargo, su diversidad está amenazada porque más de la tercera parte de los bosques y selvas han sido deforestados y por la extracción ilegal de especímenes, entre otras causas. Por lo tanto, es importante la evaluación de la germinación de las semillas y sobrevivencia de las plántulas, para valorar la factibilidad de su cultivo *ex situ*. El objetivo de estudio fue establecer el porcentaje de germinación de las semillas de *H. myriantha*, *Tillandsia limbata*, *T. botterii* y *T. multicaulis*, la sobrevivencia y describir algunas de sus características morfológicas. Se postula que las semillas tienen capacidad de germinación y supervivencia de plántulas *ex situ*. Se realizó una prueba de germinación de las semillas y se calculó el porcentaje diario, durante 15 d; las plántulas se trasplantaron sobre un sustrato de fibra de coco y vermiculita (3:1) con una capa de tul, para la evaluación de sobrevivencia durante 44 d. Se utilizó un diseño completamente al azar, con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones. *Hechtia myriantha* tuvo diferencias mínimas significativas en sobrevivencia, presentó 82 % de sobrevivencia, hasta los 36 d. Las semillas de *T. limbata*, *T. botterii* y *H. myriantha* germinaron homogéneamente, mientras que las semillas de *T. multicaulis* no germinaron. Las semillas de *T. limbata*, *T. botterii* y *H. myriantha* tienen porcentaje de germinación adecuado para la evaluación de sobrevivencia y sus características morfológicas facilitan su manejo, pero las plántulas no sobrevivieron durante el estudio.

Palabras clave: germinación, sobrevivencia, semillas, plántulas.

SEED GERMINATION AND SEEDLING SURVIVAL FOR *H. myriantha*, *T. limbata*,
T. botterii and *T. multicaulis*.

ABSTRACT

Bromeliads are very important in the ecosystems. However, bromeliads diversity is threatened, because, more than a third of the forests has been cleared (Ricker et al., 2007) and the illegal logging (Flores -Palacios and Valencia -Díaz 2007; Mondragón, 2009).

Therefore, seed germination and seedlings survival must be evaluated to assess ex situ plant production. The aim of this study was assessed the following: seed germination of *H. myriantha*, *Tillandsia limbata*, *T. botterii* and *T. multicaulis*, the seedling survival and describe some seed morphological characteristics. The hypothesis was that the seeds can germinate and the seedlings will survive on ex situ conditions. A germination test was performed and the daily germination was registered during 15 days. Seedlings were grown on a substrate of coconut fiber and vermiculite (3:1) on a layer of white tulle fabric, for a period of 44 d. A completely randomized design was used, four treatments and four replicates. Seed germination of *T. limbata*, *T. botterii* and *H. myriantha* was homogeneous. In contrast *T. multicaulis* did not germinate. The best survival results obtained was for *Hechtia myriantha* seedlings, which were 82% up to 36 d. Seed germination was very homogenous for *T. limbata*, *T. botterii* and *H. myriantha* while for *T. multicaulis* germination was nil. Seed germination was good for *T. limbata*, *T. botterii* and *H. myriantha* but not the seedling survival.

Keywords: germination, survival, seeds, seedlings

3.2 INTRODUCCIÓN

Según Bewley y Black (1978) la germinación ocurre cuando una semilla viable embebe agua, incrementa la respiración, inicia la síntesis de proteínas y otras actividades metabólicas. Posteriormente, la radícula emerge de la semilla y se dice que la semilla ha germinado. Varios requisitos deben ser satisfechos antes de que estos eventos puedan ocurrir; en la mayoría de los casos debe haber suficiente oxígeno para permitir la respiración, la temperatura debe ser adecuada y algunas semillas requieren luz para germinar.

Matilla (2003) definió la germinación como el conjunto de procesos metabólicos y morfogenéticos que resultan en la transformación de un embrión en una plántula fotosintéticamente competente. La germinación de una semilla es uno de los procesos más vulnerables por los que atraviesa el ciclo vital de una planta, pues de ella depende el inicio del desarrollo de la nueva generación. Una vez germinadas las semillas es necesario evaluar su sobrevivencia en diversos sustratos para cuantificar su éxito bajo diferentes condiciones ambientales y de esta manera desarrollar un protocolo que asegure la sobrevivencia de las especies.

Dado que la apariencia externa no permite determinar si una semilla es viable o no, existen pruebas específicas para evaluar el estado fisiológico y capacidad germinativa. Esencialmente hay dos tipos de pruebas, las pruebas de germinación que miden la proporción de semillas viables y las pruebas que evalúan el estado de viabilidad, como la prueba de corte, uso de rayos X, conductividad eléctrica del medio de re-suspensión, prueba de tetrazolio, tinción de tejidos y extracción de embriones, que permiten clasificar a las semillas como viables o muertas (Gosling, 2004). Estas pruebas permiten estimar la calidad de las semillas, pero, la mayoría son pruebas destructivas (Masetto *et al.*, 2007) o inadecuadas para semillas pequeñas.

Las especies con porcentaje mayor de semillas con estructuras completas presentan los porcentajes mayores de germinación. Todas las especies de *Tillandsia* iniciaron su germinación (exposición del hipocótilo) 3 d después de la siembra, y la mayoría de las especies alcanzaron la germinación total después de 19 d, excepto en *T. fasciculata* y *T. violácea* que la alcanzaron después de 7 d (Machado y Cícero, 2003).

Sosa *et al.* (2010) utilizaron rayos X para determinar la viabilidad de las semillas, con las imágenes radiográficas observaron que en promedio una proporción alta de las semillas de *T.*

violacea (31.6 %) no presentaba las estructuras internas completamente desarrolladas. Los autores concluyeron que las semillas recolectadas en campo presentaron viabilidad baja. Al respecto, Scatena y Segecin (2006) indicaron que las condiciones micro-ambientales en las que se desarrolla la planta madre de *Tillandsia* afectan el desarrollo o maduración de las semillas. Es el caso del apéndice plumoso, característico del género, que puede variar en longitud, y el cotiledón puede no desarrollarse. Esta respuesta de las semillas al ambiente también es común en árboles de dispersión anemócora (Schmidt, 2007).

Machado y Cícero (2003) evaluaron las semillas de *T. prodigiosa*, *T. carlos-hankii*, *T. bourgaei*, *T. makoyana* y *T. fasciculata* y no detectaron diferencias significativas en el porcentaje de semillas completas, parcialmente desarrolladas y vanas. En estas especies, la suma de semillas con estructuras completas y con desarrollo parcial fue superior a 80 %, y, por tanto, con posibilidad amplia de originar plántulas normales.

Duarte *et al.* (2010) indicaron que la germinación de *Dyckia goehringii* inició a los 4 d y la germinación máxima se obtuvo a los 14 d. En *Aechmea bracteata* los mismos eventos ocurrieron a los 5 y 20 d (Goode y Allen, 2009).

Sosa *et al.* (2012) con sus resultados de rayos X y germinación señalaron que la capacidad germinativa está determinada por la madurez del embrión y la presencia de cotiledón y de apéndices plumosos, entre otros aspectos relacionados con el desarrollo completo de las estructuras de la semilla. Las plantas epífitas de *Tillandsia* generalmente se desarrollan en condiciones de disponibilidad limitada de agua y nutrientes; además, la abundancia de polinizadores también es reducida (Carranza y Estévez, 2008; Zotz y Asshoff, 2010).

La luz es un factor importante para la germinación de las semillas de las bromelias (Vadillo *et al.*, 2004), pues existe efecto positivo de este factor en la germinación de las semillas de *P. raimondii* ya que los porcentajes de germinación e Índice de Velocidad de Germinación (IVG) de los tratamientos con luz superaron a los tratamientos en oscuridad. Resultados similares fueron obtenidos por Suni *et al.* (2001). Por lo anterior, las semillas de esta especie, clasificadas como fotoblásticas positivas según Berrie (1990), indicaron que la radiación cíclica o continua promueve la germinación en numerosas bromelias y tiene efecto en la velocidad de la germinación.

Como en numerosas especies, la temperatura también es un factor que afecta la germinación de las semillas de bromelias. Klekailo *et al.* (2012) observaron que con 15 y 20 °C

no hubo germinación, aún después de 80 d de la siembra y a 20 y 30 °C hubo porcentaje bajo de germinación; la respuesta fue similar a la de las subfamilias Pitcairnioideae y Tillandsioideae, en las que la germinación estuvo favorecida con temperaturas entre 20 y 30 °C, en las especies *Pitcairnia albiflos*, *Dyckia goehringii*, *Alcantarea imperialis*, *Pitcairnia flammea*, *Vriesea heterostachys* y *V. penduliflora* (Duarte *et al.*, 2010). En el intervalo de 20 a 30 °C la germinación fue lenta, se inició a los 14 d y se extendió hasta los 72 d.

La germinación de las semillas de bromelias también es afectada por la humedad y es el factor más importante para la germinación de las semillas sin latencia, es el caso de la mayoría de las bromelias epifitas (Benzing, 2000).

Por la importancia del proceso de germinación, en este estudio se determinó el porcentaje de germinación de semillas de *Tillandsia limbata* schldl, *Tillandsia botterii* E. Mowen ex Baker, *Tillandsia multicaulis* Steud. y *Hechtia myriantha* Mez., las características morfológicas de las semillas y la sobrevivencia de las plántulas en el sustrato de fibra de coco y vermiculita (3:1). La hipótesis fue que las semillas tienen capacidad de germinación y supervivencia de plántulas *ex situ*.

3.3 MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en cámaras con ambiente controlado en el Postgrado de Botánica del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Las semillas utilizadas en el estudio fueron de *T. limbata* Schltdl, *T. botterii* E. Mowen ex Baker, *T. multicaulis* Steud. y *Hechtia myriantha* Mez.

Las semillas de *T. limbata* y *T. botterii* se recolectaron en el estado de Veracruz en el libramiento Coatepec-Xico, km. 1.2 la Orduña (19° 28' 14.03" LN, 96° 55' 53.14" LO, altitud de 1,184 m). *Tillandsia multicaulis* Steud. se recolectó en el estado de Veracruz en el Ejido de Agüita Fría, municipio de San Andrés Tlalnehuayocan (19° 33' 26.78" LN, 96° 59' 12.98" LO, altitud de 1,197 m). Las coordenadas se tomaron con un GPS Garmin etrex 10 exploración.

Las semillas de *H. myriantha* Mez se recolectó en Monte Oscuro, Veracruz, en, municipio de Emiliano Zapata (19° 22' 51.3" LN, 96° 47' 27.8" LO, altitud de 779 m). Las coordenadas fueron geolocalizadas con un equipo GPS Garmin Nuvi 200, Navegador portátil y corroboradas en Google Earth®.

El establecimiento del estudio se basó en la metodología descrita por la International Seed Testing Association (1987), también de Zotz y Norman Reuter (2009) y se realizaron algunas modificaciones. El proceso comenzó con la desinfección del sustrato (papel filtro), las cajas petri y las charolas, con una mezcla de agua destilada e hipoclorito de sodio comercial, al 1 %. Las semillas no fueron desinfectadas. Se colocó algodón en la base de la caja petri y papel filtro, ambos se humedecieron con 15 mL de agua destilada.

Las semillas se colocaron sobre el papel filtro en 16 cajas petri (cuatro cajas por cada especie y 25 semillas por caja petri) y en una cámara de germinación a 25 °C, intensidad luminosa de 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y fotoperiodo neutro (12 h luz, 12 h oscuridad). El papel se humedeció hasta el trasplante de las plántulas (a las dos semanas de embeber las semillas). Se consideró a una semilla germinada cuando se observó la emergencia del hipocótilo (Figura 3.2). Las semillas geminadas se contabilizaron diariamente. Una vez obtenido el máximo porcentaje de germinación (a los 15 d de embeber las semillas) el trasplante se realizó colocando cada plántula en una charola plástica de 11 por 12 cm de longitud y anchura y 4.5 cm de profundidad, con 600 g de una mezcla de fibra de coco y vermiculita (3:1) sobre una tela de tul. Las plántulas

se regaron cada tercer d con agua destilada atomizada, durante 57 d. las plantas vivas se contabilizaron diariamente para obtener el porcentaje de sobrevivencia.

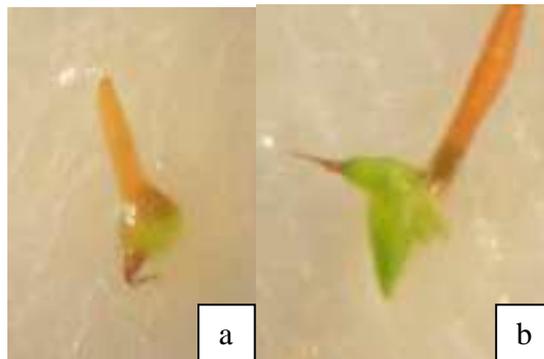


Figura 3.1. (a) Semilla germinada a los 8 d y (b) plántula de 42 d de edad de *T. limbata*.

3.3.1 Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar, con cuatro especies de bromelias y cuatro repeticiones con 25 semillas cada una. La germinación de las semillas y la sobrevivencia de las plántulas se registraron diariamente y con esos datos se calculó el porcentaje de germinación y de sobrevivencia.

La comparación de medias de Tukey ($\alpha= 0.05$) se realizó con los datos de germinación obtenidos a los 15 d de iniciado el experimento y la comparación de la sobrevivencia de las plántulas se realizó a los 11 d después del trasplante. La sobrevivencia al momento del trasplante se consideró el 100 %.

3.4 RESULTADOS

3.4.1 Dimensiones de las semillas

Las semillas de *T. multicaulis* tuvieron de 4 mm de longitud media y 0.5 mm de diámetro medio, la coma tuvo 13 mm de longitud media y la de su cápsula fue de 45 a 50 mm y su diámetro fue de 15 a 20 mm (Figura 3.2 a).

Las semillas de *T. limbata* tuvieron de 4 mm de longitud media y 0.5 mm de diámetro medio, su coma tuvo una longitud de 30 a 33 mm. Las cápsulas tuvieron de 40 a 45 mm de longitud y de 40 a 45 mm de diámetro (Figura 3.2 b).

Las semillas *T. botterii* tuvieron de 4 mm de longitud media y 0.5 mm de diámetro medio, su coma tuvo una longitud de 10 a 12 mm y su cápsula tuvo de 35 a 40 mm de longitud y 20 a 25 mm de diámetro (Figura 3.2 c).

Las semillas de *H. myriantha* tuvieron de 5 mm de longitud media y 0.6 mm de diámetro medio, su cápsula tuvo de 5 a 6 mm de longitud y 0.4 a 0.7 mm de diámetro (Figura 3.2 d).

Debido a las dimensiones y la presencia de plumas, el manejo de las semillas de *T. limbata*, *T. botterii* y *T. multicaulis* es difícil, ya que las plumas se enredan unas con otras; con práctica el manejo se facilita. Las semillas de *H. myriantha* no tiene pluma, lo que hace menos difícil su manejo.

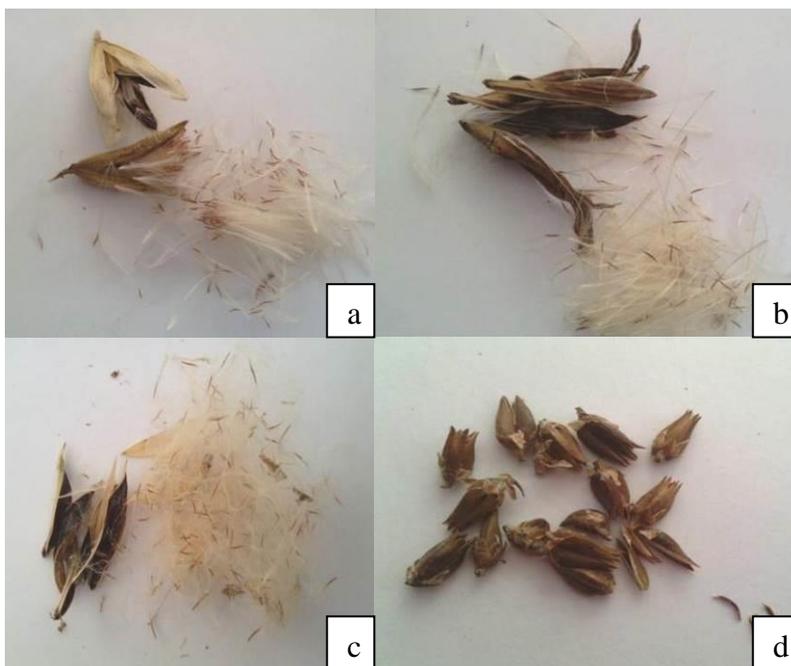


Figura 3.2. Semillas y cápsulas de: *Tillandsia multicaulis* (a); *T. limbata* (b); *T. botterii* (c) y *H. myriantha* (d).

3.4.2 Germinación y sobrevivencia

Las semillas de *T. limbata*, *T. botterii* y *H. myriantha* tuvieron germinación promedio de 80 a 100 %; en contraste, las de *T. multicaulis* no germinaron (Figura 3.3).

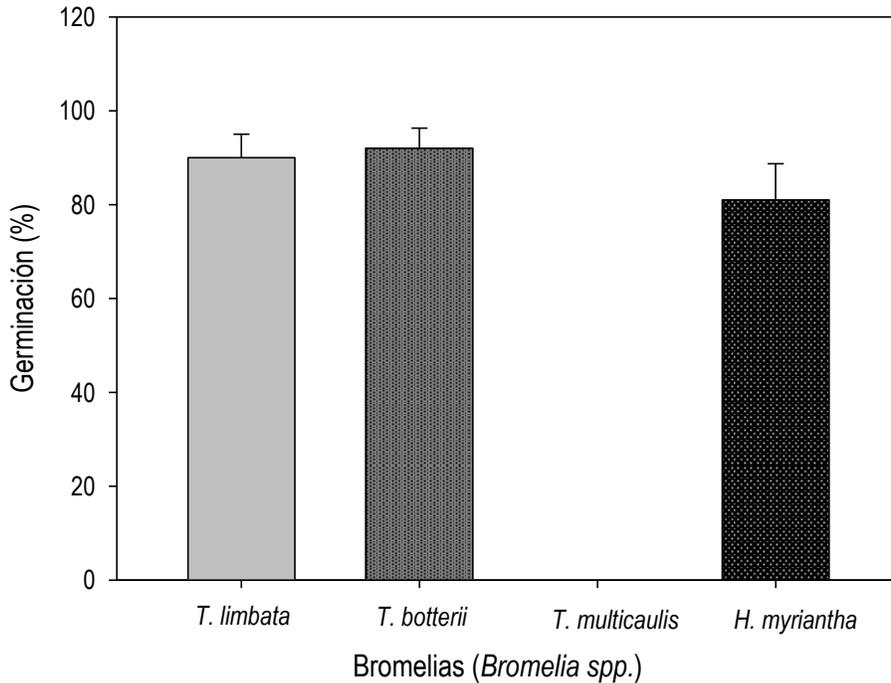


Figura 1.3. Porcentaje de germinación de semillas de *Tillandsia limbata*, *T. botterii*, *T. multicaulis* y *H. myriantha*, después de 15 d a 25 °C y fotoperiodo neutro con irradiancia de 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

La sobrevivencia de las plántulas decayó de 100 a 0 % en tiempo variable entre las especies. Durante los primeros 24 d, la sobrevivencia de las plántulas de *H. myriantha* permaneció constante y luego comenzó a descender (Figura 3.4).

La sobrevivencia de *H. myriantha* fue la mayor entre las tres especies, pues las plántulas permanecieron vivas hasta 42 d y la de *T. limbata* y *T. botterii* fue de 15 d y 12 d respectivamente. Las plántulas de *Hechtia* parecen haber presentado vigor significativamente mayor que las de *Tillandsia*, ya que existieron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre la sobrevivencia de las plántulas de *H. myriantha* y las de *Tillandsia*.

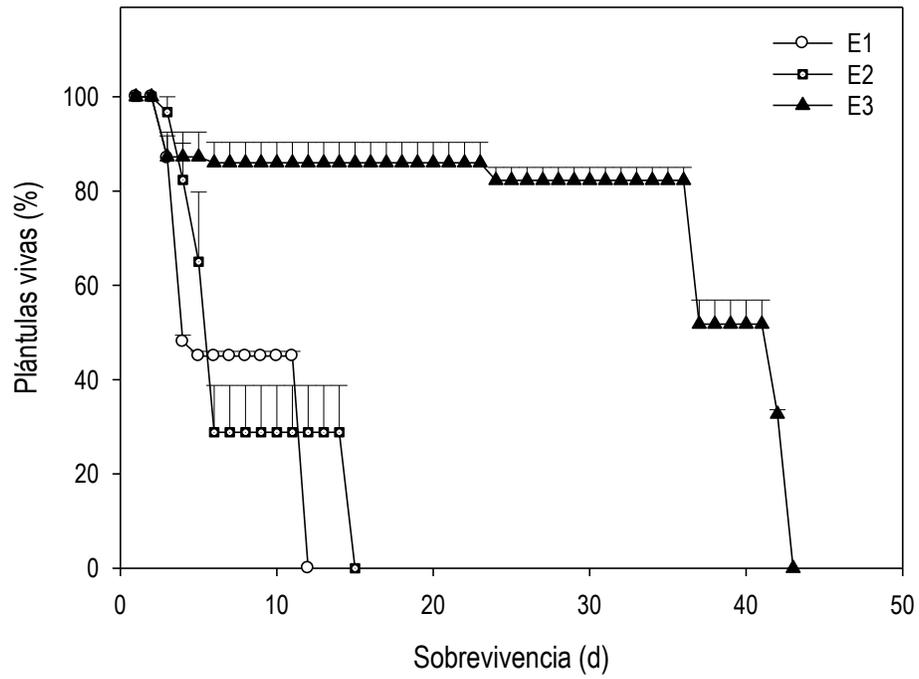


Figura 3.2. Sobrevivencia de plántulas de: *T. limbata* (E1), *T. botterii* (E2), *H. myriantha* (E3), las plántulas se obtuvieron por germinación de las semillas a 25 °C e intensidad luminosa de 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las barras sobre los valores representan el error estándar, n= 16 unidades experimentales.

3.5 DISCUSIÓN

El vigor de una semilla es la suma de todas las características que determinan el nivel de actividad metabólico y desempeño de la semilla o lote semillero durante la germinación, la emergencia y los primeros días de las plántulas. Las semillas que se desempeñan bien son catalogadas como de alto vigor y las que se desempeñan pobremente son llamadas semillas con bajo vigor; se diferencian por su actividad enzimática y respiratoria, tasa y uniformidad de la germinación de la semilla, crecimiento de la plántula y habilidad para la emergencia de las plántulas bajo condiciones ambientales no favorables (International Seed Testing Association, 1987).

La germinación de las semillas y sobrevivencia de las plántulas de *H. myriantha* reflejó su vigor. Sin embargo, el vigor no se determinó formalmente, ni las condiciones en las que la planta madre, antes de la recolección de las semillas (ambiente, nutrición, polinización, maduración de la semilla, entre otras), se desarrolló, y que podrían usarse para determinar el vigor real de las semillas.

A pesar de que las semillas de *T. limbata*, *T. botterii* y *H. myriantha* provienen de una planta de ambiente silvestre, germinaron uniformemente y no se detectó latencia; en contraste, en los tres casos las plántulas que se obtuvieron de esas semillas tuvieron crecimiento heterogéneo.

3.6 CONCLUSIÓN

Las semillas de *H. myriantha*, *T. Limbata* y *T. botterii* presentaron porcentaje de germinación alto, esto permitió evaluar la sobrevivencia de las plántulas y su inestabilidad.

3.7 LITERATURA CITADA

- Bewley, J.D.; Black M. 1978. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. Springer- Verlag, Berlin Heidelberg New York. 306 p.
- Benzing, D.H. 2000. History and evolution. Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation. Cambridge University Press. pp. 463–541.
- Berrie, A. 1990. Germination and Dormancy. En: Malcom B. Wilking (ed.). Advanced Plant Physiology. USA. pp. 440-468.
- Carranza, Q.J.A; Estévez V.J.V. 2008. Ecología de la polinización de Bromeliaceae en el dosel de los bosques neotropicales de montaña. Boletín Científico Centro de Historia Natural. 12:38-47.
- Duarte, E.F.; Carneiro, I.F; da Silva, N.F.; Guimarães, N.N.R. 2010. Características físicas e germinação de sementes de *Dyckia goehringii* Gross & Rauh (Bromeliaceae) sob diferentes temperaturas. Pesquisa Agropecuaria Tropical 40: 422-429.
- Goode, L.K.; Allen, M.F. 2009 Seed germination conditions and implications for establishment of an epiphyte, *Aechmea bracteata* (Bromeliaceae). Plant Ecology 204: 179-188.
- Gosling, P.G. 2004. Viability Testing. In: Smith, R.D.; Dickie, J.B.; Linington, S.H.; Pritchard, H.W.; Probert, R.J. (eds). Seed Conservation: Turning Science Into Practice. Royal Botanic Gardens Kew, UK. pp. 447–481.
- International Seed Testing Association. 1987. Handbook of vigour test methods ISTA, Zurich Switzeland. 300 p.
- Klekailo, G.N.; Tuesca, D.; Barberis, I. M. 2012. Efecto de la temperatura, el ambiente lumínico y la escarificación sobre la germinación de semillas de *Bromelia serra* Griseb. (Bromeliaceae). Revista Brasileira de Sementes 34(4): 605- 612.
- Machado, C.F.; Cícero, S.M. 2003. ‘Aroeira-branca’ (*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl.–Anacardiaceae) seed quality evaluation by the Xray test. Scentisa Agricola 60: 393-397.
- Masetto, T.E.; Davide, A.C.; Silva, E.A.A.; Faria, J.M.R. 2007. Avaliação da qualidade de sementes de *Eugenia pleurantha* (Myrtaceae) pelo teste de raios X. Revista Brasileira de Sementes 29(3): 170-174.

- Matilla, A. 2003. Ecofisiología de la germinación de semillas. Paraninfo S.A., Madrid. pp. 901-922.
- Scatena, V.L.; Segecin, S.A.I. 2006. Seed morphology and postseminal development of *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) from the “Campus Gerais” Paraná, Southern Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 49: 945-951.
- Schmidt, L.H. 2007. *Tropical Forest Seed*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York, USA. 410 p.
- Sosa, L.D.; Chávez, S.J.L.; Mondragón, Ch.D.; Estrada, G.J.A.; Ramírez, V.P. 2012. Viabilidad y germinación de semillas de seis especies de *Tillandsia* (Bromeliaceae) de Oaxaca, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 35(5): 37-42.
- Suni, M.; Cano, A.; Vadillo, G. 2001 Ensayos preliminares en *Puya raimondii* Harms (Bromeliaceae) *Revista Peruana de Biología* (8)1: 53-59.
- Toledo, A.T. 2005. Germination and establishment of *Tillandsia eizii* (Bromeliaceae) in the Canopy of an Oak Forest in Chiapas, México. *Biotropica* 40(2): 246- 250.
- Vadillo, G.; Suni, M.; Cano, A. 2004. Viabilidad y germinación de semillas de *Puya raimondii* Harms (Bromeliaceae). *Revista Peruana de Biología* 11(1): 71- 78.
- Vadillo, G.; Suni, M. 2006. Evaluación de sustratos para el establecimiento en laboratorio de plántulas de *Puya raimondii* Harms (Bromeliaceae). *Revista Peruana de Biología* 13(1): 139 – 141.
- Zotz, G.; Reuter, N. 2009. The effect of exposure to seawater on germination and vegetative growth of an epiphytic bromeliad. *Journal of Tropical Ecology* 25(1):311- 319.

CAPÍTULO IV. PRUEBA TOPOGRÁFICA DE TETRAZOLIO Y GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *Hechtia perotensis*

4.1 RESUMEN

La prueba topográfica de tetrazolio se aplica para evaluar los tejidos vivos de las semillas y decidir si es necesario aplicar algún tratamiento pre-germinativo. Estos tratamientos permiten conocer la homogeneidad del lote de semilla y de las plántulas que pudieran obtenerse. Los objetivos de este estudio fueron determinar el protocolo adecuado para aplicar la prueba topográfica de tetrazolio en semillas de *H. perotensis*, determinar el porcentaje de esas semillas sin embriones y con embriones viables, con viabilidad baja y sin viabilidad y conocer el efecto de tratamientos pre-germinativos. La hipótesis fue que la prueba topográfica de tetrazolio es adecuada para las semillas de *Hechtia perotensis*. Un diseño completamente al azar se utilizó, con tres concentraciones de tetrazolio (0.2, 0.5 y 1.0 % en agua destilada) y seis repeticiones. Las semillas se imbibieron con agua a 20 °C, por 16 h; luego, en un lado de cada una se realizó un corte, para asegurar la entrada del tetrazolio, y se mantuvieron por 16 h a 30 °C. Los embriones se extrajeron, se lavaron y se observaron con ayuda de un microscopio estereoscópico. La prueba pre-germinativa se realizó a 25 °C, con fotoperiodo neutro (12 h luz, 12 h oscuridad) e intensidad luminosa de 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Para esta evaluación se utilizó un diseño completamente al azar con los promotores de la germinación KNO_3 (0.2 %) y AG_3 (500 ppm) y un testigo, cada uno con seis repeticiones y se evaluaron plántulas normales, anormales y semillas no germinadas. La concentración de tetrazolio apropiada para la evaluación de los embriones fue 0.5 % y el protocolo permitió determinar 36, 7, 24 y 33 % de semillas con embriones viables, con viabilidad baja, no viables y sin embriones, respectivamente. El porcentaje de germinación fue insuficiente para evaluar la sobrevivencia de plántulas y los promotores de la germinación no tuvieron efecto en las semillas de *H. perotensis*.

Palabras clave: vigor, latencia, protocolo, semilla, tetrazolio

ABSTRACT

The tetrazolium topographic test evaluate the living tissues of the seeds and if the seeds need a pretreatment. The aim of this study was to evaluate the best concentration of tetrazolium to use the viability test for *H. perotensis*. Also to classify seeds with and without embryo, viable embryos, and embryo with low viability. A completely randomized design was used with three treatments of tetrazolium concentrations (0.2, 0.5 and 1.0 %) each with six replicates. Firstly, the seeds were imbibed at 20 ° C for 16 h. It was made a cut on the side of a seed, to allow the tetrazolium to penetrate tissues for 16 hours at 30 ° C. The embryos were washed to proceed to the evaluation of the viability with the aid of a stream microscope. The seed germination treatment was made at photoperiod with 12 h light and 12 h obscurity and light intensity of 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. It was used a completely randomized design with the promoters of germination potassium nitrate (0.2 %) and gibberellic acid (500 ppm) and a blank treatment with water. Seeds of *Hechtia perotensis* were used. Normal, abnormal seedlings and no germinated seeds were evaluated. The best tetrazolium concentration was 0.5 % because the staining allowed to classify 36, 7, 24 and 33% of seeds with viable embryos, with low viability, embryo not viable and without embryos respectively. Seed germination was not increased with the chemical promoters in seeds of *H. perotensis*.

Keywords: vigour, latency, protocol, seed, tetrazolium

4.2 INTRODUCCIÓN

La prueba topográfica de tetrazolio tiene como objetivo evaluar la viabilidad de las semillas, permite estimar la condición biológica de ellas; además, es útil para la identificación de semillas latentes (Moreno, 1984). Pero, es una prueba que depende de la experiencia del evaluador para detectar la viabilidad de las semillas. Un protocolo específico para evaluar la viabilidad de las semillas de las bromelias no ha sido documentado; éste parece necesario debido a que las dimensiones de las semillas de bromelias son notablemente pequeñas (similares a las de *H. myriantha*: longitud de 4 a 5 mm y diámetro entre 0.5 y 0.6 mm; Capítulo III de esta tesis).

El ácido giberélico (AG_3) aplicado exógenamente ha sido identificado como efectivo en el control y promoción de la germinación de semillas debido su habilidad de interrumpir estados de latencia y reemplazar estímulos ambientales como los de la luz o la temperatura; por esto, incrementa los porcentajes de germinación y disminuye el tiempo para la germinación en especies como *Carica papaya* L. (Bhattacharya y Khuspe, 2001). El nitrato de potasio (KNO_3) es usado para disminuir la latencia y promover la germinación de las semillas (Siadat *et al.*, 2011). Copeland y McDonald (2001) recomiendan el uso de soluciones acuosas de este compuesto con diferentes concentraciones en pruebas de rutina de germinación, para semillas de especies diversas. A pesar de que el efecto promotor de la germinación de las semillas por compuestos nitrogenados fue reconocido hace varias décadas, su mecanismo de acción aún se desconoce parcialmente (Giba *et al.*, 2007; Siadat *et al.*, 2011).

El objetivo de esta investigación fue realizar un protocolo de la prueba topográfica de tetrazolio que permitiera evaluar la necesidad de aplicar tratamientos pre-germinativos en semillas de *H. perotensis*. Para esto se evaluaron concentraciones diferentes de tetrazolio y se cuantificaron las semillas con embriones viables, no viables y sin embrión. Otro objetivo del estudio fue determinar el efecto de los tratamientos pre-germinativos de las semillas de *H. perotens*.

4.3 MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el laboratorio de semillas, del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Semillas de *H. perotensis* fueron recolectadas en el estado de Veracruz, México, a un costado de la autopista Perote-Puebla, antes de la caseta de Cuapiaxtla (19° 29' LN 97° 9' LO, 2,000 a 2,010 m de altitud), en septiembre de 2011. Las coordenadas fueron geolocalizadas con un equipo GPS (Garmin Nuvi 200-Navegador) portátil y corroboradas en Google Earth®.

4.3.1 Establecimiento de la prueba topográfica de tetrazolio

Las semillas se colocaron sobre papel humedecido a 20 °C durante 16 h, para permitir que las semillas embebieran y se ablandara la testa. Después, para propiciar la penetración de la solución de tetrazolio, se le realizó un corte horizontal en las semillas con un bisturí con filo recto, arriba del embrión (Figura 4.1). Al realizar el corte, se cuidó no dañar el embrión, y para esto se utilizó un microscopio estereoscópico.



Figura 4.1. Corte horizontal encima del embrión de una semilla de *Hechtia perotensis*.

Después del corte, las semillas se sumergieron en la solución acuosa de tetrazolio (0.2, 0.5 o 1.0 %), durante 16 h a 30 °C. Al finalizar este tiempo, las semillas se enjuagaron con agua destilada y los embriones se separaron raspando delicadamente la parte opuesta al corte horizontal que se realizó antes y empujándolo cuidadosamente con la punta del bisturí; así, se obtuvieron los embriones completos (Figura 4.2).



Figura 4.2. Embrión, de *Hechtia perotensis* extraído de una semilla.

Después, los embriones se evaluaron y clasificaron. De acuerdo con la International Seed Testing Association (2010) el tetrazolio interactúa con los procesos de reducción y oxidación de las células vivas en la semilla, las formas hidrogenadas cambian de color y permiten distinguir las zonas con células vivas, que corresponden a las áreas coloreadas, de las muertas, las incoloras. La reacción ocurre dentro de las células, el pigmento rojo es insoluble y delimita las zonas muertas que mantienen su color original. Así, con la tinción adecuada de los embriones es posible clasificarlos como viables, con viabilidad baja e inviables (Figura 4.3). Además, las semillas sin embrión pueden contabilizarse durante la extracción del embrión.

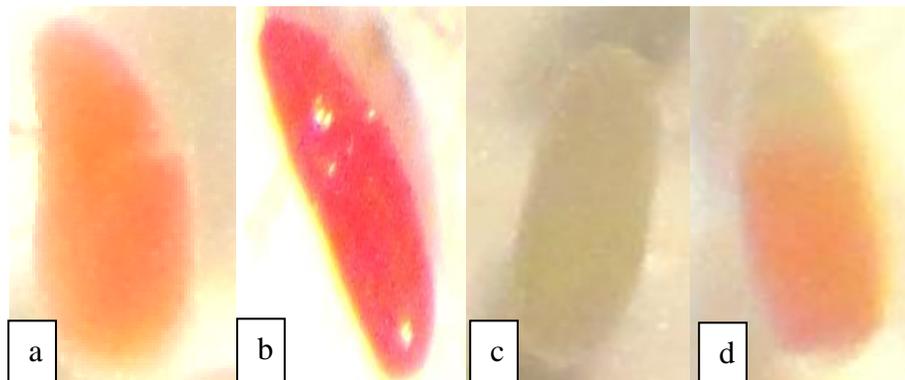


Figura 4.3. Embriones de *Hechtia perotensis* (a) con viabilidad baja; (b) con viabilidad máxima; (c y d) inviables o no viables.

4.3.2 Diseño experimental

Un diseño completamente al azar fue usado con tres concentraciones, o tratamientos, de tetrazolio (0.2, 0.5 y 1.0 %). Cada tratamiento incluyó seis repeticiones y cada repetición se conformó con 25 semillas; así, el total de semillas evaluadas fue 150 por tratamiento. Se realizó una comparación de medias de Tukey con $\alpha= 0.05$ con los datos de las semillas con embriones viables, no viables, con vigor bajo y sin embrión.

4.3.3 Establecimiento de la prueba de germinación con nitrato de potasio y ácido giberélico

En 18 cajas petri, con papel filtro en su base interna, se sembraron 1800 semillas de *H. perotensis*, 100 por caja. Las semillas de seis cajas se embebieron con agua destilada, las de otras seis con una solución acuosa de KNO_3 al 0.2 % y las otras seis con una solución con 500 ppm de AG_3 . Las cajas se colocaron en una cámara con ambiente controlado a 25 °C, con intensidad luminosa de $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y fotoperiodo neutro.

Las semillas se revisaron a los 8 d de establecido el ensayo y a los 15 d se contabilizaron las semillas germinadas con plántulas normales (Figura 4.1) y anormales (con plántulas que presentaban deformaciones en primera hoja) y las no germinadas.



Figura 4.4. Plántulas normales de *Hechtia perotensis*.

4.3.4 Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con tres tratamientos, KNO_3 , AG_3 y un testigo, cada uno con seis repeticiones y cada repetición con 100 semillas. Se realizaron comparaciones de medias entre los tratamientos, con la prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$).

4. 4 RESULTADOS

El porcentaje promedio de las variables evaluadas en la prueba topográfica de tetrazolio indicó que las semillas de *H. perotensis* tuvieron viabilidad cercana a 40 % (Figura 4.5).

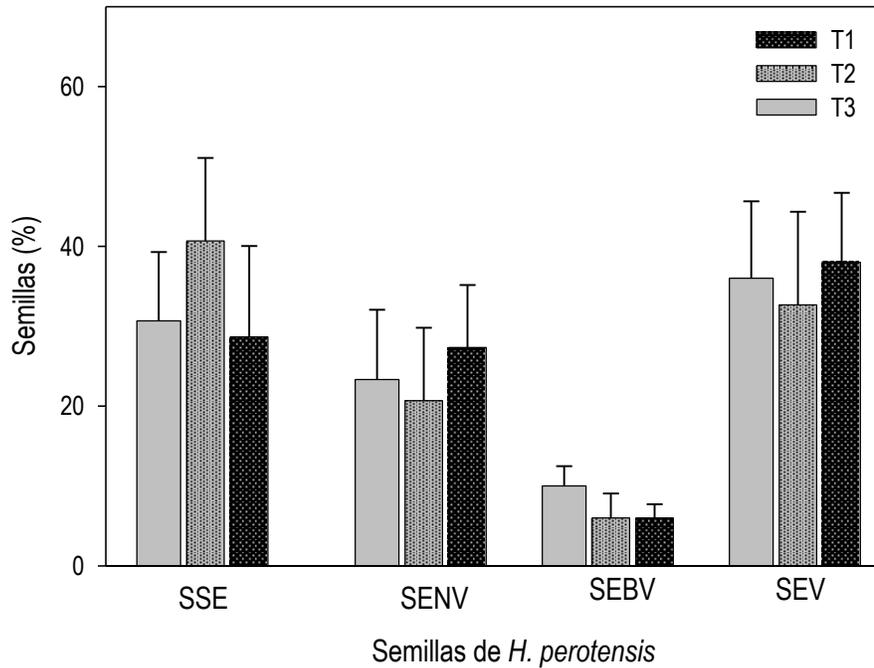


Figura 4.5. Porcentaje de semillas sin embrión (SSE), con embriones no viables (SENV), con embriones de viabilidad baja (SEBV) y con embriones viables (SEV) en los tratamientos: T1= tetrazolio 0.2 %, T2= tetrazolio 0.5 % y T3= tetrazolio 1.0%. Cada columna es el promedio de seis repeticiones, con 100 semillas cada una, las barras sobre las columnas representan el error estándar, n= 18 unidades experimentales.

Los porcentajes de plántulas normales y anormales y de semillas no germinadas indican que no existieron diferencias significativas entre los tratamientos ($p \leq 0.05$) (Figura 4.6).

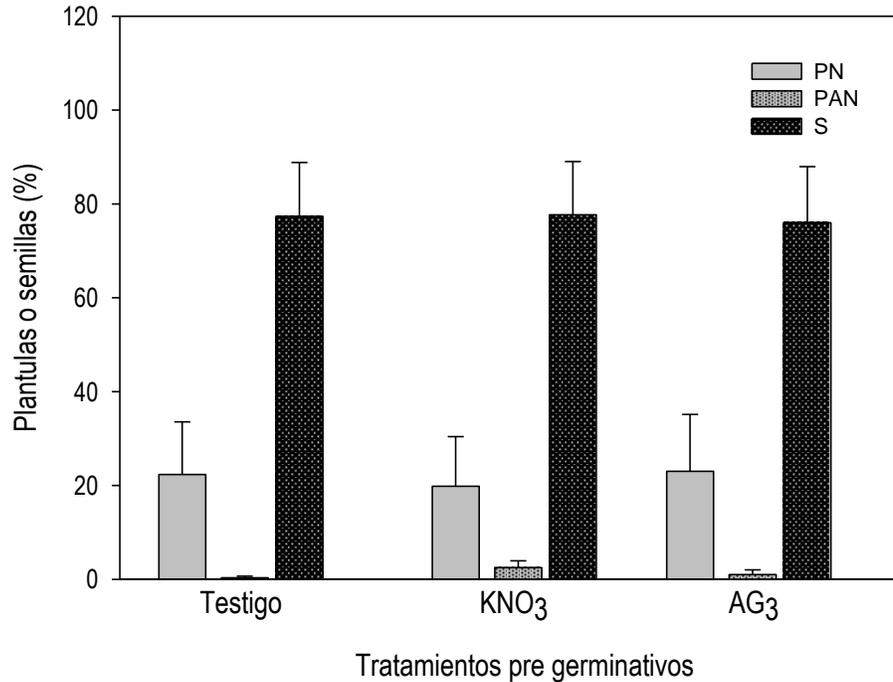


Figura 4.6. Porcentaje de plántulas normales (PN), plántulas anormales (PAN) y semillas no germinadas (S) obtenidos después de 15 d de germinación a 25 °C, con intensidad luminosa de $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fotoperiodo neutro y con agua (testigo), KNO_3 al 0.2 % o 500 ppm de AG_3 en soluciones acuosas. Cada columna representa el promedio de seis repeticiones, con 100 semillas cada una, y las barras sobre las columnas representan el error estándar, $n= 18$ unidades experimentales.

4.5 DISCUSIÓN

Los resultados de la prueba de germinación estándar indicaron que 77 % de las semillas de la recolecta de *H. perotensis* no germinaron durante los primeros 15 d, en las condiciones óptimas o estándar de temperatura, luz y humedad para este proceso (Figura 4.6); sin embargo, esta prueba no permite discriminar entre las semillas que no germinaron por ser latentes, abortadas, o tener embrión dañado. En contraste, la prueba con tetrazolio, independientemente de la concentración usada (0.2 a 1.0 %), permitió conocer que en promedio 33 % de las semillas de la muestra estudiada no contenían embrión, 26 % de ellas sí tenían embrión, pero no era viable, y 9 % contenía embrión con viabilidad baja (Figura 4.5). Estos resultados indican que en promedio 68 % de las semillas de la muestra no tenían posibilidad de germinar o sólo algunas (6 %), aquellas con viabilidad baja en su embrión, podrían haber germinado. Los resultados, también permiten suponer que la muestra contenía alrededor de 18 % de semillas latentes, ya que del 40 % cuantificado, con la prueba de tetrazolio, como semillas viables, únicamente germinó 22 % (Figura 4.6).

Los resultados de la germinación con los promotores germinativos no fueron significativamente diferentes a los obtenidos sin ellos y únicamente hubo un incremento pequeño (< 2 %) de semillas germinadas en KNO_3 y AG_3 que originaron plántulas anormales (Figura 4.6). Por lo que, el análisis previo de la proporción de semillas latentes en la muestra analizada se confirmó con el uso de ambos compuestos.

Los resultados de este estudio difirieron con los de Andrade *et al.* (2008), estos autores observaron que el porcentaje de emergencia de plántulas a partir de semillas de papaya (*Carica papaya* L.) fue modificado significativamente ($p \leq 0.05$) por los tratamientos con AG_3 y KNO_3 , ya que ambos compuestos promovieron la emergencia de plántulas, de 82 % a 100%, y la exposición de hojas, de 2.06 a 2.26, en comparación con las semillas no tratadas, que generaron 80 % de plántulas con 2.03 hojas, y que el efecto mayor se obtuvo AG_3 1.0 mM. También Magnitskiy y Ligarreto (2007) obtuvieron incremento de 32 % de germinación de semillas de agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz) a los 35 d con la imbibición de las semillas en soluciones acuosas de KNO_3 y AG_3 .

La falta de efecto de AG_3 y KNO_3 en las semillas de *H. perotensis* pudo deberse a que las concentraciones seleccionadas no fueron adecuadas. El desarrollo de quiescencia metabólica o latencia en semillas debida a la desecación fue demostrado por Magill *et al.* (1994) en semillas de papaya (*Carica papaya* L.), además ese proceso ocasiona que la germinación sea lenta y se obtengan porcentajes de emergencia bajos. Los efectos positivos en el incremento de la germinación y emergencia y en la sincronía de estos eventos se han logrado con la imbibición de las semillas con 200 mgL^{-1} (Navarrete 1996) a 600 mgL^{-1} de AG_3 (Furatani y Nagoa 1987). Lima *et al.* (1985) mencionan que al aplicar ácido giberélico (1.0 mM) se inhibe la quiescencia de las semillas de papaya (*Carica papaya* L.) eliminando el efecto de las sustancias lipoproteicas que retardan o inhiben la germinación.

Debido a que el efecto de las tres concentraciones de tetrazolio evaluadas no mostraron diferencia significativa ($p > 0.05$) en la tinción de los embriones y todas permitieron cuantificar proporciones significativamente similares de cada clase de semillas, con embrión viable, sin él o vigor bajo, puede señalarse para *H. perotensis* puede usarse cualquier concentración de este compuesto entre 0.2 y 1.0 %. Estos resultados coinciden con los de Craviotto *et al.* (2011), ya que con solución de tetrazolio al 0.1 y 0.5 %, a $30\text{ }^\circ\text{C}$ por 3 h obtuvieron en semillas de soya resultados adecuados para discernir matices diferentes indicativos de su estado fisiológico. Aunque no hubo diferencias significativas entre los tratamientos en el estudio presente (Figura 4.6), debe indicarse que con tetrazolio al 0.2 % hubo cierta dificultad para diferenciar entre los embriones viables y uno no viable.

Victoria *et al.* (2006) reportaron que en semillas de *Calendula officinalis* la solución de tetrazolio al 0.5%, por tiempos y temperaturas diferentes, solo se logró la tinción de los cotiledones, debido a que son unas de las estructuras con mayor actividad metabólica una vez iniciada la imbibición de la semilla. En semillas de *Anethum graveolens* se logró la tinción adecuada del embrión con tetrazolio al 1% y tetrazolio al 0.5 % se logró la tinción completa de la semilla. Esto indica que para las semillas de cada género y especie es necesario un estudio detallado que incluya tiempos, temperaturas y concentraciones del colorante, para establecer los modelos o patrones topológicos que permitan la evaluación confiable de la viabilidad en las semillas.

4.6 CONCLUSIONES

El protocolo de la prueba topográfica de tetrazolio es adecuado para evaluar la calidad de los embriones en semillas de *H. perotensis*; la concentración óptima de tetrazolio fue 0.5 %. La cantidad de embriones viables en semillas de *H. perotensis* no superó la cantidad de embriones con viabilidad baja, no viables, ni de semillas sin embrión.

El uso de KNO_3 y AG_3 no estimula la germinación de *H. perotensis*. La muestra analizada mostró la heterogeneidad natural del potencial de germinación de las semillas de *H. perotensis*.

4.7 LITERATURA CITADA

- Andrade, R.M.; Ayala, H.J.J.; Alia, T.I.; Rodríguez M.H.; Acosta D.C.M.; López M.V. 2008. Efecto de promotores de la germinación y sustratos en el desarrollo de plántulas de papayo. *Revista Facultad de Agronomía Luz* 25(1): 617-635.
- Bhattacharya, J.; Khuspe, S. 2001. In vitro and in vivo germination of papaya (*Carica papaya* L) seeds. *Scientia Horticulturae* 91(1): 39-49.
- Copeland, L. O.; McDonald, M. B. 2001. Principles of seed science and technology. Kluwer Academic Publishers. pp. 104-110.
- Craviotto, R.M.; Arango, P.M.R.; Gallo, C. 2011. Novedades de la prueba de viabilidad por tetrazolio en soja. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Laboratorio de semillas EEA Oliveros, Santa Fe, Argentina. 6 p.
- Furatani, S.C.; Nagao, M. A.1987. Influence of temperature, KNO_3 , AG_3 and seed drying on emergence of papaya seedlings. *Scientia Horticulturae* 32: 67-72.
- Giba, Z.; Grubisic, D.; Konjevic, R. 2007. Seeking the role of no in breaking seed Dormancy. *Plant Cell Monographs* 5(6): 91-110.
- International Seed Testing Association. 2010. International Rules for Seed Testing. Basserdorf, CH Switzerland. 300 p.
- Lima, D.S.; Lima, D.I.; Venezuela, G.R.; Macias P. 1985. Estudio de la viabilidad de las semillas de *Carica papaya* L. (Variedad de Maradol Roja). *Centro Agrícola* 12(3): 119-130.
- Magill W.; Deighton, N.; Pritchard, H.W.; Benson, E.E.; Goodman, B.A. 1994. Physiological and biochemical studies of seed storage parameters in *Carica papaya*. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh* 120(1): 439-442.
- Magnitskiy, S.V.; Ligarreto, G.A. 2007. Efecto del nitrato de potasio, del ácido giberélico y del ácido indolacético sobre la germinación de semillas de agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz). *Revista colombiana de ciencias hortícolas* 1(2): 137-141.
- Moreno, M.E. 1984. Análisis físico y biológico de semilla agrícolas. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Instituto de Biología, México D.F. 383 p.

- Navarrete, R.J.A. 1996. Producción del papayo (*Carica papaya* L.) variedad Maradol en Yucatán. Instituto Tecnológico Agropecuario No.2. Centro de Investigación y Graduados Agropecuarios. Dirección General de Educación Tecnológica Agropecuaria. Mérida, Yucatán. México. 18 p.
- Siadat, S.A.; Moosavi, S.A; Zadeh, M.S.; Fotouhi, F.; Zirezadeh, M. 2011. Effects of halo and phytohormone seed priming on germination and seedling growth of maize under different duration of accelerated ageing treatment. African Journal of Agricultural Research 6(31): 6453-6462.
- Victoria, J.; Bonilla, C.; Sánchez, M. 2006. Viabilidad en tetrazolio de semillas de caléndula y eneldo. Acta agronómica 55(1): 14-18.

CAPÍTULO V. GERMINACIÓN DE SEMILLAS Y SOBREVIVENCIA DE PLÁNTULAS DE BROMELIA (*Tillandsia* spp.) EN FUNCIÓN DE LA ESPECIE, TEMPERATURA Y FERTILIZACIÓN

5.1 RESUMEN

La temperatura es un factor importante y específico para la germinación de las semillas y sobrevivencia de las plántulas de *Tillandsia* spp. El efecto de la fertilización en la sobrevivencia de sus plántulas se desconoce. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la temperatura y la aplicación de solución Steiner en la germinación de las semillas en cajas petri y la sobrevivencia de las plántulas de *T. limbata* y *T. botterii* suspendidas en tul y con fotoperiodo neutro (12 h luz, 12 h oscuridad) e intensidad luminosa de $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Se postula que la temperatura óptima para la germinación de las semillas y sobrevivencia de las plántulas de *T. limbata* y *T. botterii* es $25 \text{ }^\circ\text{C}$ y que la solución Steiner a las plántulas afecta positivamente la sobrevivencia de ellas. Después de la germinación, las plántulas se regaron cada 8 d con solución Steiner al 100% y cada 2 semanas se evaluó la altura y diámetro de la roseta de las plantas. Se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones y ocho tratamientos, temperatura (15 y $25 \text{ }^\circ\text{C}$), especie (*T. limbata* y *T. botterii*) y riego con solución nutritiva (sin y con solución Steiner). La germinación de las semillas de *T. limbata* y la sobrevivencia de sus plántulas en cajas petri a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ fue estadísticamente superior a *T. botterii* ($p \leq 0.05$) y sin la solución nutritiva sus plántulas, a 15 y $25 \text{ }^\circ\text{C}$, mantuvieron 100% de viabilidad a los 24 d; estas plántulas a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ con solución nutritiva tuvieron alturas y diámetros de 2.7 a 3.5 mm mayores que con agua. La sobrevivencia de las plántulas suspendidas en tul de ambas especies fue estadísticamente superior a $15 \text{ }^\circ\text{C}$ ($p \leq 0.05$) que a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

Palabras clave: germinación, sobrevivencia, temperatura, efecto

SEED GERMINATION AND SEEDLING SURVIVAL OF BROMELIA (*Tillandsias* pp.) AS
A FUNTION OF SPECIE, TEMPERATURE AND FERTILIZATION.

ABSTRACT

The temperature is an important factor and specific of seed germination and seedling survival of *Tillandsia* spp. The fertilization effect on seedling survival is unknown. The aim of this study was to assess the effect of the temperature and the Steiner solution on the germination of seeds in petri dishes and the seedling survival of *T.limbata* and *T. botterii* on a growing system in which the seedlings were put on a fabric tulle and hanging on the growing chamber. The photoperiod was 12h light and 12 h obscurity. The light intensity was of $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The hypothesis was hat 25 °C is a suitable temperature for seed germination. Also, that the Steiner solution increase the survival time. After seed germination, the seedlings were watering every 8 d with Steiner solution (100%) and every two weeks was evaluated the diameter and length of the plant. A complete randomized design was used. Four replicates and eight treatments were assessed. The treatments were: temperature (15 and 25 °C), specie (*T.limbata* and *T. botterii*) and watering with and without nutritive solution of Steiner. Seed germination of *T. limbata* and seedling survival in petri dishes at 25 °C was higher to *T. botterii* ($p \leq 0.05$) and seedlings watering without nutritive solution, seedlings survival at 15 and 25 °C keep 100% viability at 24 d; seedlings growing at 25 °C with nutritive solution had 2.7 and 3.5 mm high and diameter bigger than the seedlings watering with water. Seedling survival hanging on fabric tulle of both species was bigger at 15 °C ($p \leq 0.05$).

Key words: germination, survival, temperature, effect.

5.2 INTRODUCCIÓN

Las etapas del ciclo de vida de las plantas, como la germinación, el crecimiento y la floración y otras pueden ser afectadas por las temperaturas; cada proceso fisiológico tiene un óptimo particular y no es posible definir una temperatura óptima para la planta; por lo que, con frecuencia se establece un intervalo (Urbano, 2001). La sensibilidad de las plantas a la temperatura es variable, según la especie, la edad, la historia previa y las condiciones ambientales. En general, las plántulas jóvenes son sensibles a temperaturas menores que cero (Sung *et al.*, 2003) y el desarrollo vegetativo, con el crecimiento, de las plántulas es afectado por la temperatura y por la nutrición antes y después del trasplante (Weston y Zandstra, 1989; Armenta, 1998).

En contraste, algunos procesos fisiológicos son favorecidos con temperaturas relativamente altas; es el caso de la germinación de algunas especies, que al debilitar las cubiertas protectoras de las semillas (Keeley, 1991) o al eliminar del suelo sustancias inhibidoras de la germinación (McPherson y Muller, 1969) la promueven. Al respecto, Smith y Downs (1974) observaron que *P. berteroniana* tiene un porcentaje bueno de germinación a 15 °C y que va disminuyendo con el aumento de la temperatura hasta los 25 °C. También, Suni *et al.* (2001), basados en ensayos preliminares indicaron que la temperatura baja podría ser un factor condicionante para la germinación posterior.

La nutrición apropiada a partir de la siembra es uno de los factores más importantes en la producción de las plántulas (Marschner, 1995) y contribuye, en gran medida, al desarrollo de plántulas vigorosas (Kratky y Mishima, 1981), especialmente en las etapas tempranas de crecimiento (Steiner, 1973). El estado nutrimental de las plántulas en el momento del trasplante influye en su establecimiento y promueve la producción temprana (Schultheis y Dufault, 1994). El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de dos temperaturas y la aplicación de solución nutritiva en la germinación de semillas, y la sobrevivencia y crecimiento inicial de las plántulas de *T. limbata* y *T. botterii*.

Se postula que las semillas germinan sincrónicamente en la temperatura adecuada y la aplicación de solución Steiner afectará positivamente la sobrevivencia y su tamaño de las plántulas de *T. limbata* y *T. botterii*.

5.3. MATERIALES Y MÉTODOS

5.3.1 Materiales

El estudio fue desarrollado en cámaras de germinación con ambiente controlado, en el Laboratorio de Análisis de Semillas del Posgrado de Semillas, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.

Semillas de *T. limbata* Schldtl y *T. botterii* E. Mowen ex Baker fueron recolectadas en el estado de Veracruz, en el libramiento Coatepec- Xico, km. 1.2 la Orduña (19° 28' 14.03" LN, 96° 55' 53.14" LO, altitud de 1,184 m). Las coordenadas se obtuvieron con un GPS Garmin etrex 10 exploración.

5.3.2 Métodos

Veinticinco semillas de cada especie se sembraron, en 10 caja petri (o unidades experimentales) de 14 cm de diámetro sobre un trozo de tul (blanco), de 12 por 10 cm, colocado sobre una capa de algodón de aproximadamente 5 mm de espesor; el contenido de la caja fue humedecido con 150 mL de agua destilada y se colocó en la germinadora (Figura 5.1). La geminación se registró cada 8 d durante 24 d y la sobrevivencia se registró cada 8 d durante 80 d. El total de semillas germinadas en cada charola fue considerado 100 % de plántulas vivas.

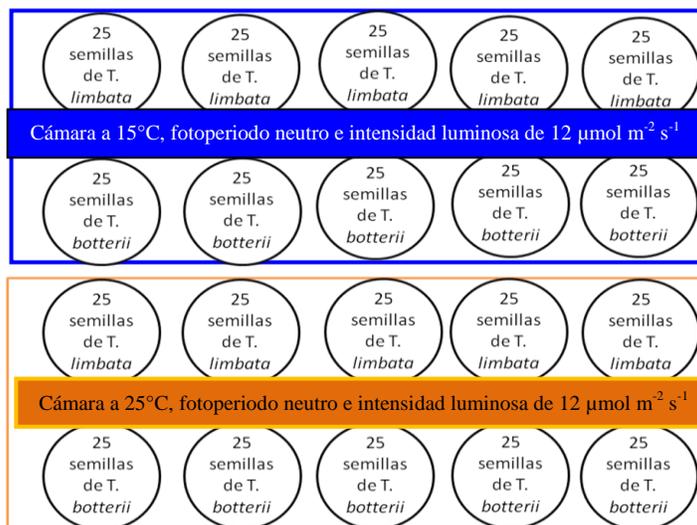


Figura 5.1. Tratamientos, repeticiones y arreglo de las unidades experimentales para la cuantificación de la germinación de semillas de *T. limbata* y *T. botterii* dentro de la germinadora.

Las plántulas se trasplantaron en ocho cajas petri con algodón y papel filtro después de 80 d del inicio del experimento (Figura 1). Luego, se colocó plástico negro con perforaciones debajo de cada plántula, para disminuir los riesgos de contaminación y la pérdida de humedad (Figura 5.2). Cuatro cajas de cada especie se colocaron en cámaras a 15 °C y 25 °C, con intensidad luminosa de 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las plántulas se regaron 8 d con solución Steiner sin diluir (100 %). La altura y diámetro de la roseta se evaluó al momento del trasplante y después de 24 d (Figura 5.1).



Figura 5.2. Medición y trasplante de plántulas de *Tillandsia limbata* con 80 d de sobrevivencia, mantenidas en cajas petri.

La sobrevivencia de las plántulas suspendidas en tul se realizó en cámaras con ambiente controlado, en el Postgrado de Botánica del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Las semillas de *T. limbata* y *T. botterii* se germinaron sobre segmentos de tul, de 5 por 10 cm, sobre algodón, en charolas plásticas. Cinco charolas fueron preparadas con cuatro trozos de tul, cada uno con 20 semillas; es decir, 200 semillas de cada especie fueron evaluadas. Las charolas se colocaron dentro de la cámara con 25 °C y fotoperiodo neutro e intensidad luminosa de 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las semillas se regaron con 5 mL de agua destilada cada tercer día durante 15 d (momento en el que se obtiene el mayor porcentaje de semillas geminadas (entre 72 y 74 %).

Las plántulas sobre el tul se cubrieron con bolsas plásticas, para evitar la pérdida de humedad (Figura 5.3). Catorce plántulas de cada especie, en cinco trozos de tul, se mantuvieron en la cámara con 25 °C y otras tantas fueron transferidas a una cámara con temperatura ambiente de 15 °C con iluminación similar a la otra cámara. Las plántulas se regaron con agua destilada, con un atomizador manual, durante 8 d. Después el riego se hizo una solución acuosa de Bayfolan (6 mL por L de agua). Las plántulas se contabilizaron cada 8 d y se calculó el porcentaje de sobrevivencia por semana.



Figura 5.3. Plántulas de *Tillandsia limbata* colocadas en con tul suspendido y cubiertas con una bolsa plástica transparente, a 15 °C, fotoperiodo neutro e intensidad luminosa de $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

5.3.2 Diseño experimental

Para la germinación de semilla se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos generados por la combinación de las especies (*T. limbata* y *T. botterii*) y la temperatura (15 y 25 °C). La unida experimental fue una caja petri con 25 semillas por caja y se evaluaron cinco repeticiones. Para la evaluación de sobrevivencia de las plántulas en las cajas de Petri se utilizó un diseño completamente al azar, con cuatro tratamientos derivados de la combinación de la especies (*T. limbata* y *T. botterii*) y la temperatura (15 y 25 °C), cinco repeticiones fueron incluidas por tratamiento (20 semillas por caja). Se efectuaron pruebas de comparación de medias de Tukey $\alpha=0.05$, con los datos de germinación a los 24 d y de sobrevivencia a los 80 d.

Para la evaluación del efecto de la temperatura, especie y tipo de riego con agua y solución Steiner, se utilizó un diseño completamente al azar con ocho tratamientos (T):

T1: *T. botterii* con riego con agua a 15 °C

T2: igual que T1 son solución Steiner

T3: *T. limbata* con riego con agua 15 °C

T4: igual a T3 con solución Steiner

T5: *T. botterii* riego con agua a 25 °C

T6: igual a T5 con solución Steiner

T7: *T. limbata* riego con agua a 25 °C

T8: igual a T7 con solución Steiner

Cuatro repeticiones de cada tratamiento, con 10 plántulas cada uno, fueron evaluados. Se midieron las variables respuesta: número de plántulas vivas, altura y diámetro, obtenidos a los 24 d, a los datos se aplicó ANDEVA (análisis de varianza) y pruebas de comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$).

Para evaluar la sobrevivencia de plántulas suspendidas sobre tul se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos (dos especies en dos temperaturas) y cinco repeticiones, cada una con 14 plántulas. A los datos obtenidos a los 42 d se aplicó ANDEVA y se realizaron comparaciones de medias de Tukey ($\alpha=0.05$).

5.4 RESULTADOS

La temperatura tuvo poco efecto en la germinación de ambas especies y todos los tratamientos tuvieron germinación entre 85 y 100 %. Aunque, las diferencias fueron relativamente bajas, ambas especies tuvieron la germinación mayor ($p \leq 0.05$) con 25 que con 15 °C a los 24 días, y con ambas temperaturas las semillas de *T. limbata* tuvieron germinación mayor que *T. botterii*. La temperatura tuvo efecto mayor en la velocidad de germinación en ambas especies, ya que alcanzaron la germinación máxima 7 o 14 d antes con la temperatura mayor (Figura 5.4).

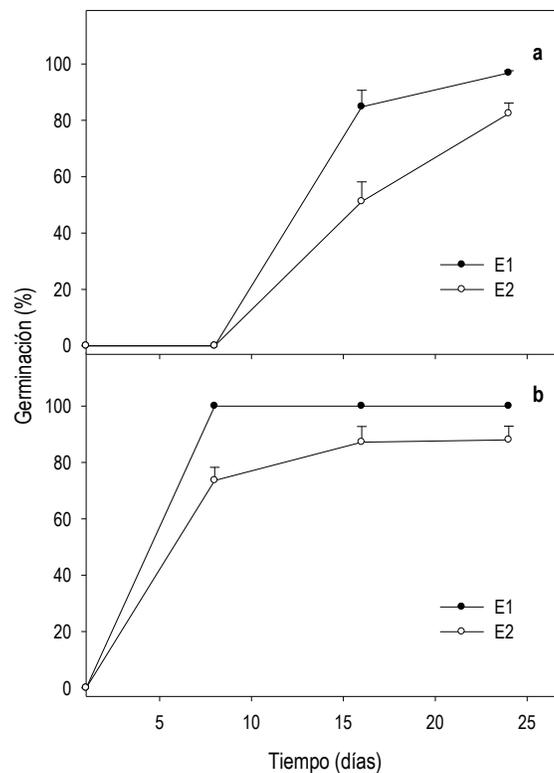


Figura 5.4 Germinación de semillas de *Tillandsia limbata* (E1) y *T. botterii* (E2), a 15 °C (a) y 25 °C (b) con fotoperiodo neutro e intensidad luminosa de $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las barras sobre los puntos representan el error estándar, $n= 20$ unidades experimentales.

La temperatura si afectó significativamente ($p \leq 0.05$) la sobrevivencia de las plántulas de ambas especies. Con 15 °C todas las plántulas de *T. botterii* permanecieron vivas hasta 35 d y después inició la mortandad que alcanzó en promedio 13 % en los siguientes 35 d. En contraste las plántulas de *T. limbata* fueron más tolerantes a la temperatura baja, pues la muerte inició después de 49 d y fue menor que 5 % (Figura 5.5 a). El efecto positivo de la temperatura mayor en la sobrevivencia de las plántulas de ambas especies fue evidente, ya que hasta los 72 d las plántulas permanecieron vivas (5.5 b).

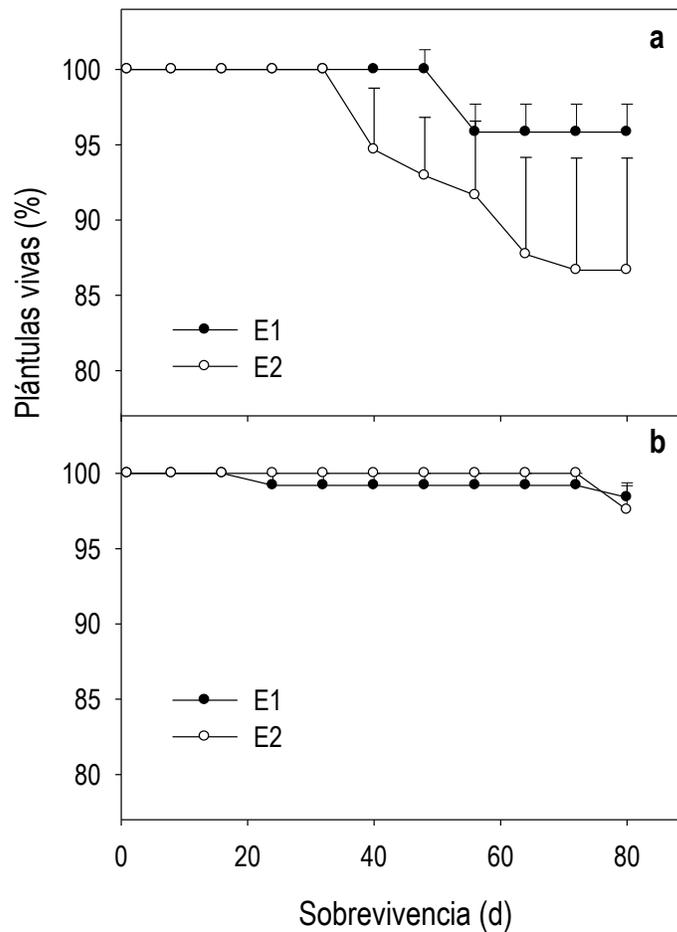


Figura 5.5. Sobrevivencia de plántulas de *Tillandsia limbata* (E1) y *T. botterii* (E2), a 15 °C (a) y 25 °C (b) con fotoperiodo neutro e intensidad luminosa de $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las barras sobre los puntos representan el error estándar, n= 20 unidades experimentales.

La solución nutritiva afectó negativamente la sobrevivencia de ambas especies independientemente de la temperatura. Las plántulas con 80 d de edad aceleraron su senescencia después de los primeros 10 d del inicio de la aplicación de solución Steiner. Así, los tratamientos mejores para el mantenimiento de las plántulas ($p \leq 0.05$) correspondieron a *T. limbata* sin solución Steiner a ambas temperaturas evaluadas, 15 y 25 °C (T3, T5 y T7) (Figura 5.6).

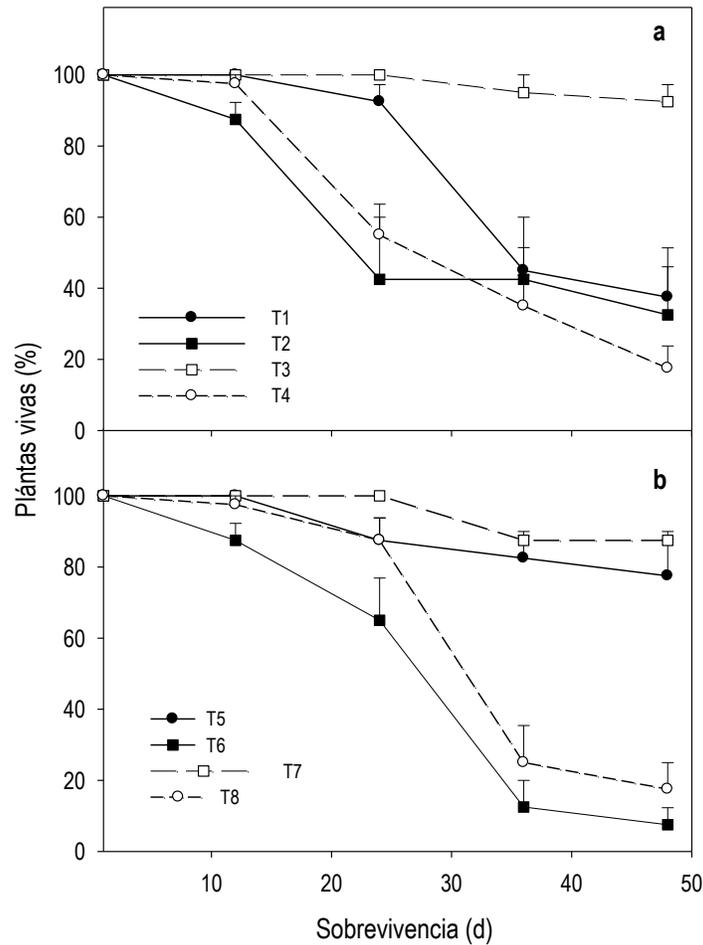


Figura 5.6. Sobrevivencia de plantas con 80 d de edad en los tratamientos (T): *Tillandsia botterii* a 15 °C regadas con agua (T1) con solución de Steiner (T2) (a); *T. limbata* a 15 °C regadas con agua (T3) con solución de Steiner (T4) (a); *T. botterii* a 25 °C regadas con agua (T5) con solución de Steiner (T6)(b); *T. limbata* a 25 °C regadas con agua (T7) con solución de Steiner (T8) (b). Las barras sobre los puntos representan el error estándar, n= 32 unidades experimentales.

La altura (A) y el diámetro (D) de las plántulas de las especies de *Tillandsia* incrementaron, significativamente ($p \leq 0.05$) entre los 80 y 104 d de edad; aunque los incrementos estuvieron en el orden de las décimas de mm, fueron dependientes de la temperatura y la aplicación de solución nutritiva (Figura 5.7 y 5.8)

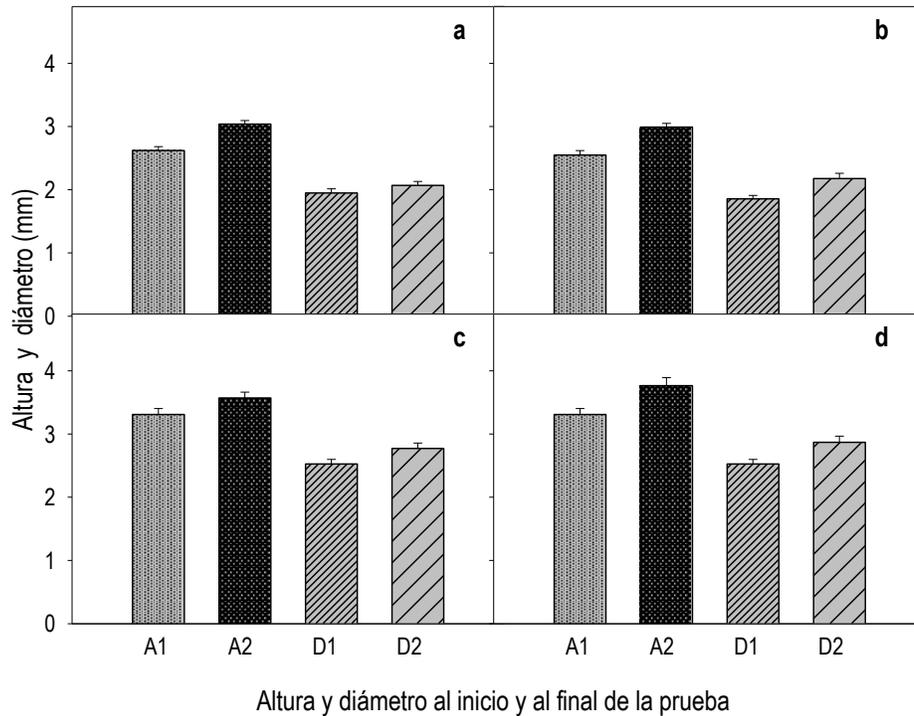


Figura 5.7. Altura (A1) y diámetro (D1) de plántulas de *Tillandsia botterii* de 80 d de edad y altura (A2) y diámetro (D2) de las plántulas de 104 d de edad: mantenidas a 15 °C y riego con agua (a) con solución Steiner (b), a 25 °C y riego con agua (c) solución Steiner (d). Las barras sobre las columnas representan el error estándar, n= 32 unidades experimentales.

La altura y el diámetro de las plántulas de *T. botterii* fueron dependientes de la edad, temperatura de crecimiento y condición de nutrición. Además del incrementaron de la altura y el diámetro estadísticamente significativo ($p \leq 0.05$) entre los 80 y 104 d de edad, el crecimiento fue significativamente mayor en el ambiente más cálido (25 °C; Figura 5.7 c y d), respecto al menos cálido (15 °C; Figura 5.7 a y b) y la combinación de la temperatura cálida y el medio enriquecido con nutrientes propició el crecimiento mayor de las plántulas respecto a los otros tres tratamientos (Figura 5.7 d).

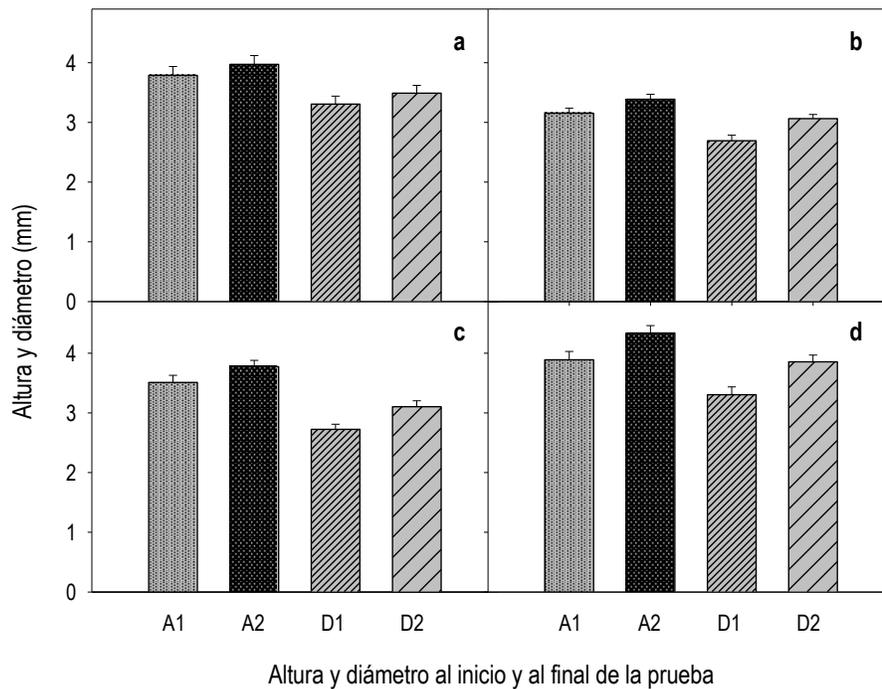


Figura 5.8. Altura (A1) y diámetro (D1) de plántulas de *Tillandsia limbata* de 80 d de edad y altura (A2) y diámetro (D2) de plántulas de 104 d de edad: mantenidas a 15 °C y riego con agua (a) o a 15 °C con solución (b), a 25 °C con riego con agua (c) o con solución Steiner(d). Las barras sobre las columnas representan el error estándar, n= 32 unidades experimentales.

En contraste con *T. botterii*, los cambios de la altura y el diámetro de las plántulas de *T. limbata* fueron menos evidentes, pues incrementaron de la altura y el diámetro de las plántulas mantenidas a 15 °C con riego con agua (Figura 5.8 a) y de la altura de las mantenidas en la misma condición a 25 °C (Figura 5.8 c) no fue significativo ($p>0.05$) entre los 80 y 104 d. Las plántulas de estas especie respondieron positivamente al riego con la solución nutritiva, pues independientemente de la temperatura incrementaron significativamente su crecimiento (Figura 5.8 c y d) respecto a los otros tres tratamientos (Figura 5.7 d).

La temperatura de 15 °C tuvo un efecto significativo en la sobrevivencia de plántulas de *Tillandsia limbata* ($p\leq 0.05$) suspendidas en tul. Manteniendo el porcentaje de plántulas vivas estable. Mientras que a 25 °C la sobrevivencia de plántulas de *Tillandsia limbata* y *T. botterii* tuvo una decaída marcada (Figura 5.9).

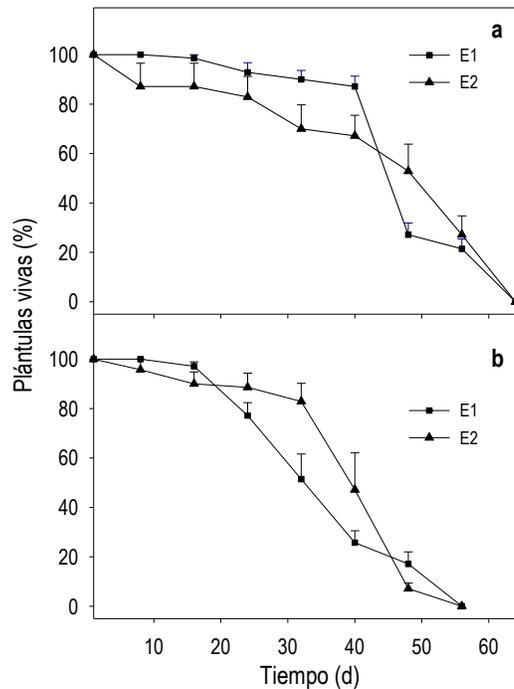


Figura 5.9. Sobrevivencia de plántulas de *T. botterii* (E1) y *T. limbata* (E2), a 15 °C (a) y 25 °C (b) con fotoperiodo neutro e intensidad luminosa de $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Cada punto es el promedio de cinco repeticiones, las barras sobre los puntos representan el error estándar, $n= 20$ unidades experimentales.

El tiempo medio de supervivencia no refleja diferencias mínimas significativas ($p>0.05$), debido a que en todos los tratamientos, las plántulas llegaron al 50 % de plántulas vivas de los 33 a los 41 d (Figura 5.10).

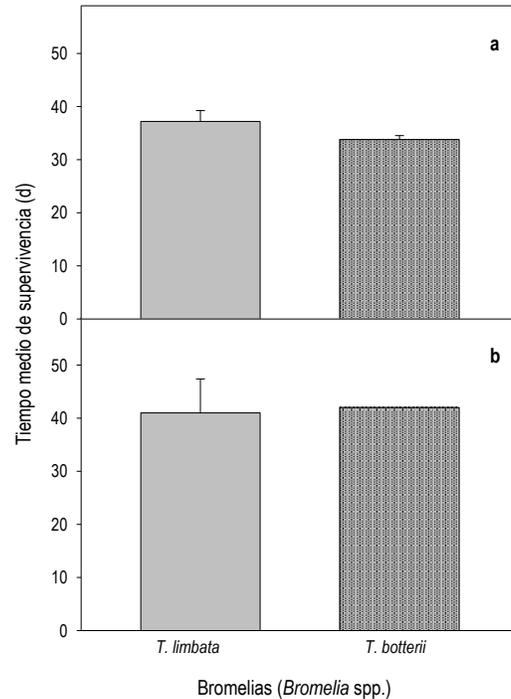


Figura 5.10. Tiempo medio de supervivencia de plántulas de : *T. Limbata* y *T. botterii* a 25 °C (a) y 15 °C (b), con fotoperiodo neutro e intensidad luminosa de $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Cada columna representa el promedio de cinco repeticiones. Las barras sobre las columnas representan el error estándar, $n= 20$ unidades experimentales.

5. 5 DISCUSIÓN

Vadillo *et al.* (2004) observaron que las temperaturas mayores que 21 °C disminuyeron entre 10 y 40 % la germinación de semillas de *Puya raimondii*. Las semillas de *Pitcairnia flamea* disminuyen su germinación 17 % cuando la temperatura aumenta de 15 a 25 °C (Mercier y Guerreiro, 1990). Esto indica que temperaturas menores que 21 °C pueden ser más adecuadas para la germinación de esas dos especies y que a pesar de pertenecer a la misma familia, el efecto de la temperatura en la germinación es específico. Esto coincide con lo observado en las semillas de *T. limbata* en cajas petri, en las que a 25 °C la germinación de las semillas fue uniforme a partir de los 8 d, mientras que *T. botterii* no mostró diferencias significativas ($p > 0.05$).

Preciado *et al.* (2002) concluyeron que con el suministro de soluciones nutritivas se obtienen plántulas de melón (*Cucumis melo* L.) más grandes. Esto coincide con lo observado en las plántulas de *T. limbata*, ya que con solución Steiner presentaron tamaño mayor (altura de 4 mm y diámetro de 3.5 mm) al de las plántulas de los demás tratamientos pero fenecieron rápidamente (30 d de sobrevivencia).

Lara (1999) indicó que la temperatura influye en la absorción de agua y nutrimentos; por ejemplo, la temperatura óptima para la mayoría de las variedades de tomate (*Physalis ixocarpa* Brot. Ex Hornem) es aproximadamente 22 °C, con la disminución de la temperatura también disminuye la absorción y asimilación de los nutrimentos y este efecto se ve reflejado en el tamaño de la plántula. Lo anterior coincide con lo ocurrido en las plántulas de *T. limbata*, a 25 °C en cajas petri, en las que hubo diferencias significativa ($p \leq 0.05$) en el tamaño de las plántulas fertilizadas con solución Steiner, al final del estudio. Sin embargo, Adams (1994) reportó que la temperatura de la solución nutritiva tiene efecto mayor en la absorción de P que de N y agua en temperaturas menores que 15 °C. Lo anterior no se ha evaluado en *T. limbata* ni *T. botterii* por lo que podría ser parte de estudios nuevos de estas especies.

La germinación y sobrevivencia de plántulas de *Kageneckia angustifolia* se vió afectada por las temperaturas de 0 a 2 °C; la sobrevivencia de las plántulas después del periodo de invierno fue de 98.7 % bajo los árboles (0 °C a 2 °C) y 84.4 % fuera de los árboles (0°C); las semillas germinaron tardíamente, hasta 20 %, fuera del árbol y 60% bajo él; además, se registró la sobrevivencia de las plántulas en espacios abiertos, en los que las temperaturas son menores que 0 °C (Peñaloza *et al.*, 2003). Similar a las plántulas de *K. angustifolia*, las plántulas de *T.*

limbata y *T. botterii*, suspendidas en tul, mantuvieron su sobrevivencia con la temperatura menor (15 °C), pero menos extrema que las que evaluadas por Peñaloza *et al.* (2003).

Según Germino y Smith (2001), en muchas de las plantas que habitan zonas de montaña alta el proceso fotosintético es altamente eficiente a temperaturas bajas y con una irradiancia alta, lo que permite su crecimiento y desarrollo. Así, podría ser que las plántulas de *T. limbata* y *T. botterii* suspendidas en tul mejorara el proceso fotosintético a 15 °C con lo que su sobrevivencia hasta 42 d fue adecuada.

Las plantas sólo pueden desarrollarse entre sus umbrales térmicos, temperaturas mínimas y máximas, variando según la especie, y se maximiza cuando se presentan temperaturas óptimas (Ortiz, 1987). Es muy aventurado decir que el buen desarrollo de la plántulas de *T. limbata* y *T. botterii* suspendidas en tul a 15 °C es debido a que es la temperatura óptima para la sobrevivencia de estas planta como lo menciona Ortiz (1987); sin embargo, sí es posible asegurar

5.6 CONCLUSIONES

Las temperaturas utilizadas en este estudio no afectan significativamente ($p > 0.05$) a la germinación de semillas, ni a la sobrevivencia de plántulas de *T. botterii* colocadas en cajas petri. La germinación de semillas de *T. limbata* es adecuada a 15 y 25°C, la sobrevivencia de plántulas de *T. limbata* no es influenciada por la temperatura.

La aplicación de la solución de Steiner al 100% coincidió con la muerte de las plántulas de *Tillandsia limbata* y *T. botterii*. Sin embargo, es necesario investigar si fue debido a la aplicación de solución u otro factor confundido. En contraste, la solución incrementó el tamaño de las plántulas de *T. limbata* a 25 °C.

La temperatura de 15°C incrementa ($p \leq 0.05$) la sobrevivencia de plántulas de *Tillandsia limbata* suspendidas en tul.

5.7 LITERATURA CITADA

- Adams, P. 1994. Some effects of the environment on the nutrition of greenhouse tomatoes. *Acta Horticulturae* 366: 405-416.
- Armenta, B.A.D. 1998. Relaciones óptimas de aniones y cationes en la solución nutritiva en riego por goteo para la producción de tomate. Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 127 p.
- Germino, M.J.; Smith W.K. 2001. Relative importance of microhabitat, plant form, and photosynthetic physiology to carbon gain in two alpine herbs. *Functional Ecology* 15(1): 243-251.
- Hall, A.E. 1992. Breeding for heat tolerance. En: Janick, J. (Ed.). *Plant Breeding Reviews*. American Society of Horticultural Science, Crop Society of America, Society of American Foresters and National Council of Commercial Plant Breeders. New York. pp. 131-168.
- Keeley, J.E. 1991. Role of fire in seed germination of woody taxa. California chaparral. *Ecology* 68(1): 434-443.
- Kratky, B.A.; Mishima, H.Y. 1981. Lettuce seedling and yield response to preplant and foliar fertilization during transplant production. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 106(1): 3-7.
- Lara, H.A. 1999. Manejo de la solución nutritiva en la producción de tomate en hidroponía. *Terra* 17(3): 21-229.
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. San Diego, California. 645 p.
- McPherson, J.K.; Muller, C.H. 1969. Allelopathic effects of *Adenostoma fasciculatum* cchamise, in the California chaparral. *Ecological Monographs* 39(1): 177-198.
- Mercier, H.; Guerreiro, O. 1990. Propagação sexuada de algumas bromélias nativas da mata Atlântica: efeito da luz e da temperatura na germinação. *Hoechnea* 17(2): 19-26.
- Ortiz, S.C.A. 1987. Elementos de Agrometeorología Cuantitativa. Departamento de Suelos. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 59-60.
- Peñaloza, L.; Lohengrin A.C.; Mary T.K.A.; Torres C. 2003. Efecto nodriza intra-específico de *Kageneckia angustifolia* D. Don (Rosaceae) sobre la germinación de semillas y

- sobrevivencia de plántulas en el bosque esclerófilo montano de Chile central. *Revista Chilena de Historia Natural* 74(3): 539-548.
- Preciado, R.P.; Baca C. G.A.; Tirado T.J.L.; Kohashi S.J.; Tijerina Ch.L.; Martínez G.A. 2002. Nitrógeno y potasio en la producción de plántulas de melón (*Cucumis melo* L.) *Terra* 20: 267-276.
- Schultheis, J.R.; Dufault, R.J. 1994. Watermelon seedling growth, fruit yield, and quality following pretransplant nutritional conditioning. *Horticultural Science* 29: 1264-1268.
- Smith L.B.; Downs, L.J.; 1974. *Flora Neotrópica (Pitcairnioideae, Bromeliaceae)*. Monograph N° 14. Hafner Press. New York. 658 p.
- Steiner, A.A. 1973. The selective capacity of tomato plants for ions in a nutrient solution. En *Proceeding 3rd International Congress on Soilless Culture*. Wageningen, The Netherlands pp. 43-53.
- Sung, D.; Kaplan, F.; Lee, K.; Guy, C. 2003. Acquired tolerance to temperature extremes. *Trends in Plant Science* 8(1): 179-187.
- Suni M.; Cano A.; Vadillo G. 2001. Ensayos preliminares en *Puya raimondii* Harms (Bromeliaceae). *Revista Peruana de Biología* 8(1): 53-59.
- Urbano, T.P. 2001. *Tratado de fitotecnia general*. Editorial Aedos S. A. Barcelona. 895 p.
- Vadillo G.; Suni M.; Cano A. 2004. Viabilidad y germinación de semillas de *Puya raimondii* Harms (Bromeliaceae). *Revista Peruana de Biología* 11(1): 71-78.
- Weston, L.A.; Zandstra, B.H.. 1989. Transplant age and N and P nutrition effects on growth and yield of tomatoes. *Horticultural Science* 24:88-90.

CAPÍTULO VI. GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *Hechtia myriantha* Y SOBREVIVENCIA DE PLANTULAS DE *H. myriantha* Y *Tillandsia limbata* EN FUNCIÓN DEL TIPO DE SUSTRATO

6.1 RESUMEN

El sustrato es el soporte para la vida de una planta y tiene un efecto directo sobre el micro clima que se genera en el sitio donde se desarrolla la misma. Los sustratos son un factor importante en la adaptación y sobrevivencia e incluso la germinación de muchas especies vegetales. El objetivo de este estudio es determinar el efecto en la germinación de semillas y sobrevivencia de plántulas de *Hechtia myriantha* y *Tillandsia limbata*. En este estudio surgieron las preguntas de investigación siguientes: ¿Tiene ventajas utilizar el suelo de origen calizo en el cual crece *Hechtia myriantha* de manera natural? o si se puede sustituir por otros más accesibles, que no afecten significativamente, ni la germinación, ni la sobrevivencia de esta especie? ¿La sobrevivencia de plántulas de *T. limbata* es afectada por el tipo de sustrato? En este estudio de germinación y sobrevivencia de *H. myriantha* se evaluaron los siguientes tratamientos (T): T1= fibra de coco y vermiculita (1:3); T2 = suelo de origen calizo; T3= fibra de coco y suelo de origen calizo (1:1); T4= fibra de coco y suelo de origen calizo (3:7); T5= fibra de coco y suelo de origen calizo (1:4). Las semillas se germinaron directamente en los sustratos de estudio en una cámara de ambiente controlado a 25 °C, fotoperiodo neutro (12 h luz, 12 h oscuridad) y una intensidad luminosa de 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Se utilizó un diseño completamente al azar con 5 tratamientos y 4 repeticiones, se hicieron pruebas de comparación de medias de Tukey $\alpha=0.05$, con los datos de germinación a los 15 d y sobrevivencia a los 40 d después de tomar los datos de germinación. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p \leq 0.05$); es decir que es posible utilizar cualquiera de los sustratos. En otro experimento, para la germinación de semillas y la sobrevivencia de plántulas los tratamientos (T) para *T. limbata* fueron los siguientes: T1= Ciprés, T2= fibra de coco y vermiculita (1:3) y T3= fibra de coco y vermiculita (3:1). Las semillas se germinaron en cajas petri, en una cámara con ambiente controlado a 25° C, fotoperiodo neutro e intensidad luminosa de 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Una vez germinadas las semillas, las plántulas se trasplantaron en charolas de plástico, cuatro charolas por sustrato con 25 plántulas cada charola. Se utilizó un diseño completamente al azar con tres tratamientos y cuatro

repeticiones. Con las observaciones obtenidas de sobrevivencia a los 24 d. Se determinó que, el mejor tratamiento en el que se utilizó fibra de coco y vermiculita (3:1) ($p \leq 0.05$) ya que sobrevivió mayor tiempo. El tipo de sustrato afecta directamente la sobrevivencia de plántulas de *Tillandsia limbata*.

Palabras clave: sustrato, germinación, sobrevivencia, sustrato de origen, vermiculita, fibra de coco, ciprés.

SEED GERMINATION OF *Hechtia myriantha* AND SURVIVAL OF SEEDLINGS OF *H. myriantha* AND *Tillandsia limbata* AS A FUNCTION OF THE SUSTRATE.

ABSTRACT

The substrate is the support for plant life and has a direct effect on the micro climate that is generated at the site in which the plant growth. The substrate is an important factor on the adaptation, survival and seed germination of many species. The aim of this study was evaluate the effect of the substrate on seed germination and seedling survival of *Hechtia myriantha* and *Tillandsia limbata*. In this study were made the next questions: Is it an advantage the use of soil in which grow *Hechtia myriantha*? Is it possible the use of synthetic substrates of low cost and without reduction of seed germination and seedling survival?. The treatments assessed were: (T): T1= coconut fiber and vermiculite (1:3); T2 = soil; T3= coconut fiber and soil (1:1); T4= coconut fiber and soil (3:7); T5= coconut fiber and soil (1:4). Seeds were germinated on the substrates at 25 °C, photoperiod with 12h light and 12h obscurity and light intensity of 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A complete randomized design was used with 5 treatments and 4 replicates. A Tukey ($\alpha=0.05$) test was used to analyze the germination data at 15 d and survival seedlings at 40 d after the germination started. There were no significant differences among treatments ($p \leq 0.05$). In other experiment for seed germination and seedling survival, there were used the following treatments: T1= cupressus chips, T2= coconut fiber and vermiculite (1:3) and T3= coconut fiber and vermiculite (3:1). Seeds were germinated on petri dishes at 25° C, photoperiod neutral and light intensity of 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Once the seeds germinate, the seedlings were transplanted on four plastic recipients and 25 seedlings each one. A complete randomized design was used with tree treatments and four replications, data were evaluated at the 24 d. The best treatment was the T3= coconut fiber and vermiculite (3:1) ($p \leq 0.05$) because the seedlings survive more time. The substrate affect the survival of seedlings of *Tillandsia limbata*.

Key words: substrate, germination, survival, soil, vermiculite, coconut fiber, cupressus chips.

6.2 INTRODUCCIÓN

El estudio de las interacciones químicas en las plantas ha sido difícil por la complejidad de los ecosistemas del suelo, así como por sustancias liberadas por los microorganismos del suelo (Rosenblueth *et al.*, 2001). Las principales funciones que debe tener el sustrato son: retención de agua; aire, oxígeno; nutrientes y soporte físico (Iglesias y Alarcón, 1994). En referencia a los factores que influyen en el crecimiento de la plántula, uno de ellos es el sustrato que generalmente es usado en mezclas de musgo, turba, grava, fibra de coco, vermiculita, entre otros, y estos son fundamentales en el proceso de adaptación de las plántulas de bromelias. Vadillo y Suni (2006) evaluaron sustratos para la sobrevivencia de las plántulas de *Puya raimondii*, durante 2 meses, y obtuvieron más de 90 % en musgo, musgo-tierra, turba, turba-tierra. Las primeras diferencias significativas se encontraron después de 17 d del trasplante y correspondió a el área superficial y a los 39 d después del trasplante se presentó en el número de hojas totales; en ambos casos las plántulas del sustrato turba-tierra presentaron los valores menores, acentuándose la diferencia con el tiempo, hasta el final (57 d después del trasplante); las plántulas en la turba presentaron los mejores resultados. Las diferencias encontradas en el vigor de las plántulas, pudieron deberse a las diferencias en retención de humedad de los sustratos, pues la mezcla turba-tierra retiene menos humedad y el musgo la retiene en exceso.

La supervivencia de las plántulas obtenidas por semilla son afectadas por el sustrato, humedad, radiación, temperatura, presencia de musgos o líquenes; además del vigor de las plántulas y la edad que presenten, entre más grandes estén las plántulas menos mortalidad existirá; sin embargo, un cambio brusco en el microambiente donde se desarrollan las plántulas afecta drásticamente su supervivencia (Toledo, 2005).

Un gran número de plantas de la familia Bromeliaceae dependen de tanques formados en el centro de la roseta para su nutrición, la recolecta de materia orgánica y humedad, mientras otras especies extraen sus nutrientes de la deposición seca de polvo y hojarasca; sin embargo, el sustrato es muy importante para la supervivencia de las plantas epífitas, este les proporciona anclaje y afecta en la retención de agua (Serrada, 2008). Por lo tanto, es indispensable estudiar el tipo de sustrato adecuado para la germinación de semillas de *Hechtia myriantha* y la supervivencia de plántulas de *Hechtia myriantha* y *Tillandsia Limbata*.

En la actualidad existen materiales que pueden ser utilizados como sustratos, y su elección dependerá de la especie vegetal a propagar, tipo de propágulo, época, sistema de propagación, precio, disponibilidad y características propias del sustrato (Hartmann y Kester, 2002). Actualmente, el suministro y homogeneidad de los sustratos es uno de los problemas más importantes desde el punto de vista práctico ya que afectan directamente el desarrollo de la plántula.

La hipótesis plantea la posibilidad de utilizar cualquiera de los sustratos estudiados, debido a que la sobrevivencia de las plántulas de *T. limbata* no será afectada significativamente. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de los sustratos en la germinación de semillas de *Hechtia myriantha* y posteriormente la sobrevivencia de plántulas de *Hechtia myriantha* y *Tillandsia limbata*. Con la premisa de que el sustrato de origen calizo donde *H. myriantha* crece de manera natural puede ser sustituido por sustratos más accesibles y que la sobrevivencia de las plántulas de *T. limbata* no se ve afectada significativamente por el tipo de sustrato estudiado.

6.3 MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio de germinación de semillas y sobrevivencia de plántulas de *H. myriantha* en función del sustrato se realizó en las cámaras de ambiente controlado en el Postgrado de Botánica del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, se utilizaron semillas de *Hechtia myriantha* Mez, recolectadas como se describe en el Capítulo III.

Los sustratos que se utilizaron fueron, fibra de coco (*Cocos nucifera* L.), vermiculita y sustrato de origen calizo (colectado *in situ*), en las siguientes mezclas y proporciones: (T1) fibra de coco y vermiculita (1:3); (T2) suelo de origen calizo; (T3) fibra de coco y suelo de origen calizo (1:1); (T4) fibra de coco y suelo de origen calizo (3:7); (T5) fibra de coco y suelo de origen calizo (1:4).

Se desinfectaron las semillas al momento de la siembra con una solución de agua destilada y cloro al 1 % al igual que la fibra de coco, sustrato de origen calizo, vermiculita, y las charolas (charolas de plástico de 11 por 12 cm de longitud y 4.5 cm de profundidad). Cuatro charolas se utilizaron para cada sustrato con, con 600 g de sustrato. Se sembraron 25 semillas por caja y se colocaron sobre una capa de tul blanco. Las charolas se cubrieron con plástico transparente, mismas que se instalaron en una cámara de ambiente controlado a 25 °C, fotoperiodo neutro (12 h luz, 12 h oscuridad) y una intensidad luminosa de $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 6.1). Las semillas se regaron con 5 mL de agua destilada diariamente hasta que germinaron a los 15 d. Posteriormente las plántulas se fertilizaron una vez a la semana con Bayfolan (6 mL por L).

Los datos de semillas germinadas se tomaron cada 4 d y a los 15 d se obtuvo el número más alto de semillas germinadas. En base a este dato se calculó el porcentaje de germinación de semillas de *H. myriantha* y se inició el conteo cada 4 d de plántulas vivas de *H. myriantha* por día para evaluar sobrevivencia.

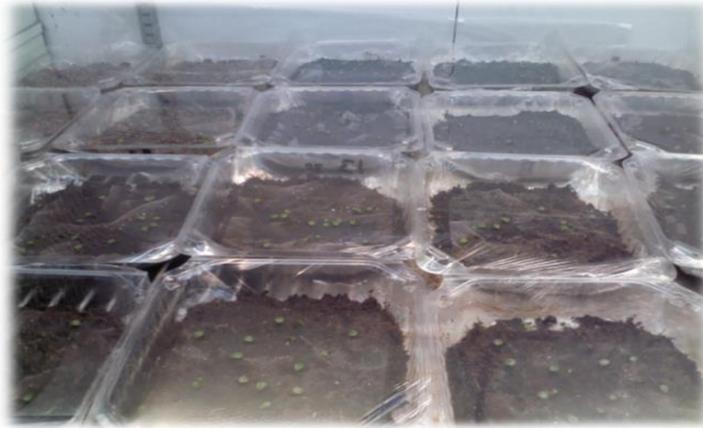


Figura 6.1. Plántulas de *H. myriantha* en cámaras con ambiente controlado a 25 °C, fotoperiodo neutro intensidad luminosa de 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en las charolas con los diferentes sustratos a los 15 días de instalado el experimento.

El estudio de sobrevivencia de plántulas de *Tillandsia limbata* dependiente del tipo de sustrato, se realizó en las cámaras de ambiente controlado en el Postgrado de Botánica del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, se utilizaron semillas de *Tillandsia Limbata* Schltldl colectadas como se describe en el Capítulo III.

Se desinfectaron las semillas, los sustratos y los recipientes con una solución de agua destilada con cloro al 1 %. Se sembraron 16 cajas petri con 30 semillas cada una, sobre una capa de algodón, papel filtro y tul blanco. Las cajas petri se instalaron en una cámara con ambiente controlado a 25 °C, fotoperiodo neutro (12 h luz, 12 h oscuridad) e intensidad luminosa de 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y se regaron diario con 5 mL de agua destilada (Figura 6.5a).

Una vez germinadas las semillas (2 semanas después del inicio de la prueba). Se colocaron cuatro charolas de plástico de 11 cm de ancho por 12 cm de longitud y 4.5 cm de profundidad, con capacidad de 600 g de sustrato. Los sustratos que se utilizaron, fueron; fibra de coco (*Cocos nucifera* L.), vermiculita y virutas de corteza de ciprés (*Cupressus sempervirens* L.) en las siguientes mezclas y proporciones: fibra de coco y vermiculita (3:1), fibra de coco, vermiculita (1:3) y ciprés (100%).

Una vez germinadas las semillas, en cada charola se colocaron 25 plántulas, traspasándolas junto con el tul y se instalaron en una cámara con ambiente controlado a 25 °C, fotoperiodo neutro e intensidad luminosa de 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 6.5b). Las plántulas se fertilizaron una vez a la semana con Bayfolan (6 mL por L).

A partir del trasplante el número de plantas vivas se contó cada 5 d y se calculó su porcentaje de sobrevivencia, hasta los 65 d.

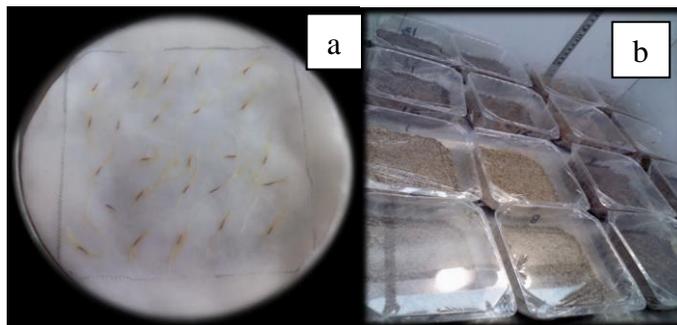


Figura 6.2. (a) Germinación de semillas de *Tillandsia limbata* en cajas petri. (b) Establecimiento de las plántulas de *T. limbata* en cada uno de los sustratos a 25° C, fotoperiodo neutro e intensidad luminosa de 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

6.3.1 Diseño experimental

Para la evaluación de germinación de semillas y sobrevivencia de plántulas de *H. myriantha* se utilizó un diseño completamente al azar con cinco tratamientos (sustratos) y cuatro repeticiones (25 semillas por repetición). Se realizaron pruebas de comparación de medias de Tukey $\alpha=0.05$, con los datos de germinación obtenidos a los 15 d y para el caso de sobrevivencia los datos se tomaron 40 d después de los de germinación.

Para la evaluación de la sobrevivencia de plántulas de *T. limbata* se utilizó un diseño completamente al azar con tres tratamientos (cada uno de los sustratos) y cuatro repeticiones (25 plántulas cada repetición), se realizaron pruebas de comparación de medias de Tukey $\alpha=0.05$, con los datos obtenidos de supervivencia a los 24 días.

6. 4 RESULTADOS

El efecto demostró diferencia significativa ($p>0.05$) en la germinación de las semillas de *Hechtia myriantha*. Por lo que el uso de cualquiera de los sustratos es adecuado para la germinación de semillas de *H. myriantha* (Figura 6.2).

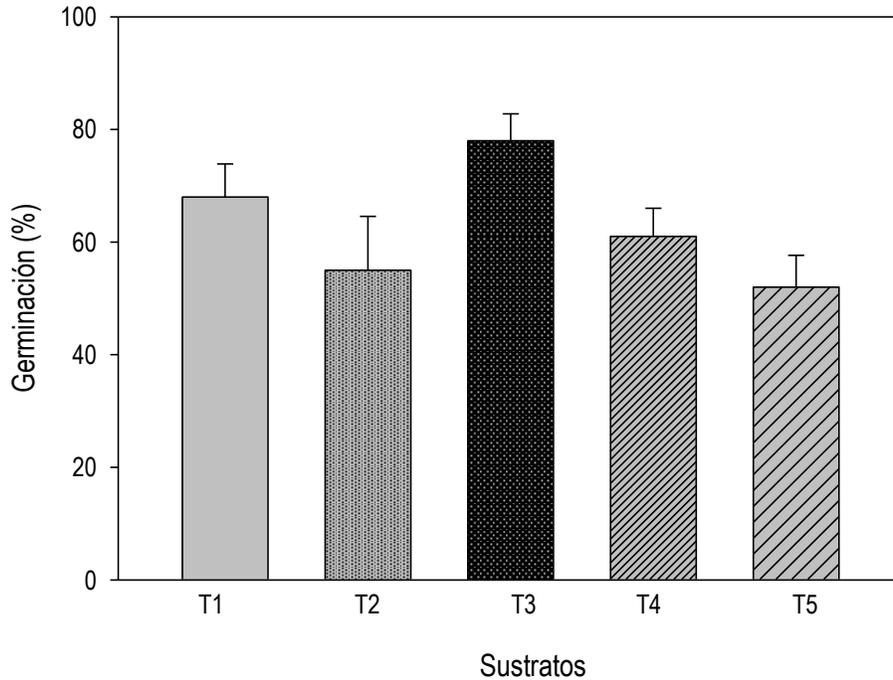


Figura 6.3. Porcentaje de germinación de *Hechtia myriantha* a los 15 días, 25°C, fotoperiodo neutro e intensidad luminosa de $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en los siguientes Tratamientos (T): T1= fibra de coco y vermiculita (1:3); T2 = suelo de origen calizo; T3= fibra de coco y suelo de origen calizo (1:1); T4= fibra de coco y suelo de origen calizo (3:7); T5= fibra de coco y suelo de origen calizo (1:4). Las barras sobre las columnas representan el error estándar, $n= 20$ unidades experimentales.

La sobrevivencia de plántulas de *Hechtia myriantha* no tuvo diferencias significativas dado el efecto de los tratamientos ($p>0.05$); ya que el porcentaje de plántulas vivas de *H. myriantha* al concluir el estudio llegó al 0 % en 49 d (Figura 6.3).

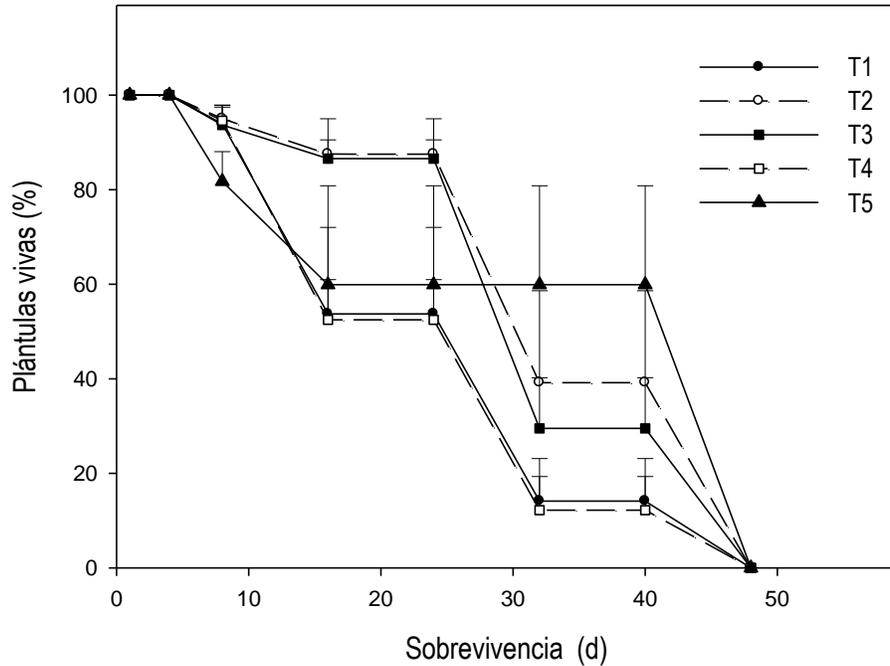


Figura 6.4. Sobrevivencia de *Hechtia myriantha* a 25°C, fotoperiodo neutro e intensidad luminosa de $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en los siguientes Tratamientos (T): T1= fibra de coco, vermiculita (1:3); T2 = suelo de origen calizo; T3= fibra de coco y suelo de origen calizo (1:1); T4= fibra de coco y suelo de origen calizo (3:7); T5= fibra de coco y suelo de origen calizo (1:4). Las líneas sobre los puntos representan el error estándar, n= 20 unidades experimentales.

El tiempo medio de supervivencia, indica los días en que el porcentaje de plántulas vivas de *H. myriantha* llego a 50 % de plántulas vivas (Figura 6.4). El tiempo medio de supervivencia de plántulas de *H. myriantha* no tienen diferencias mínimas significativas en los tratamientos evaluados ($p>0.05$).

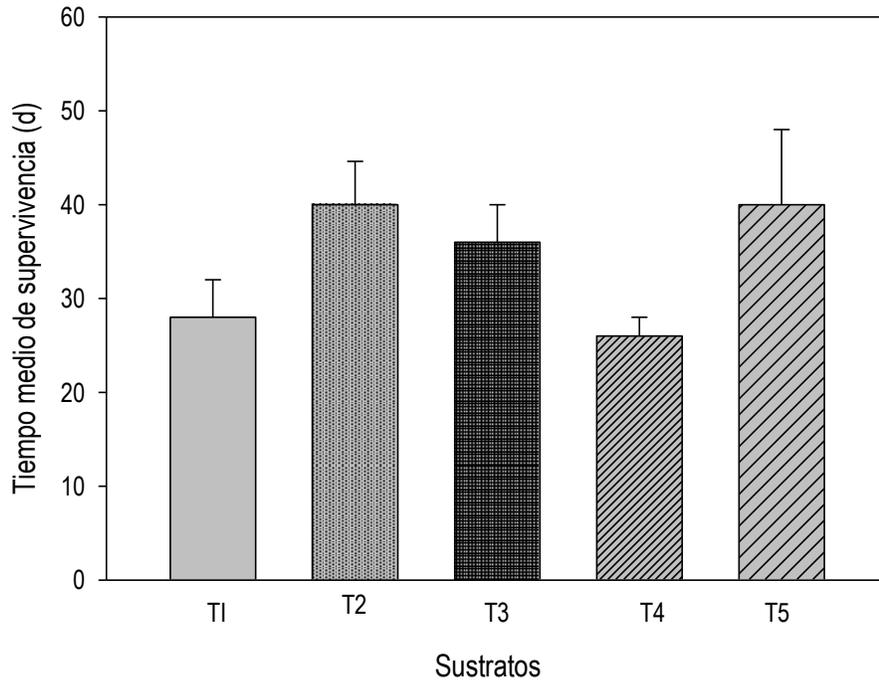


Figura 6.5. Tiempo medio de supervivencia de *H. myriantha* en los siguientes tratamientos (T): T1= fibra de coco, vermiculita (1:3); T2 = suelo de origen calizo; T3= fibra de coco y suelo de origen calizo (1:1); T4= fibra de coco y suelo de origen calizo (3:7); T5= fibra de coco y suelo de origen calizo (1:4). Las barras sobre las columnas representan el error estándar, n= 20 unidades experimentales.

La germinación de las semillas de *T. limbata*, permitió obtener la cantidad de plántulas necesarias para la evaluación de su sobrevivencia en diferentes sustratos (Figura 6.6).

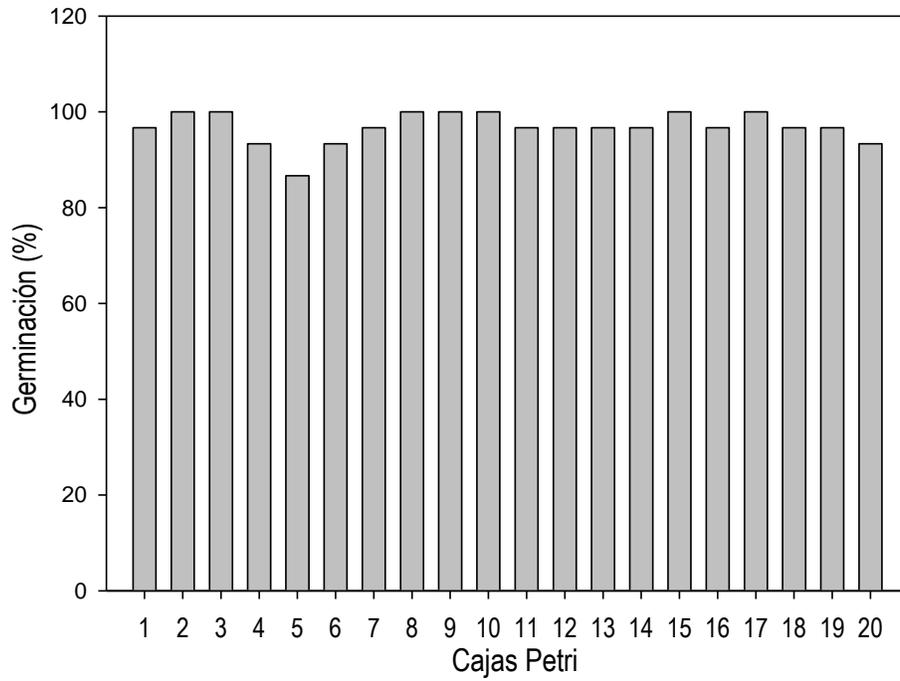


Figura 6.6. Germinación de *Tillandsia limbata*, en 20 cajas petri con 30 semillas cada caja, a los 10 días a 25°C, fotoperiodo neutro e intensidad luminosa de $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

El porcentaje de sobrevivencia de plántulas de *T. limbata* fue decayendo de manera gradual (Figura 6.7); El mejor tratamiento fue el de fibra de coco y vermiculita (3:1) con respecto a los restantes tratamientos ($p \leq 0.05$).

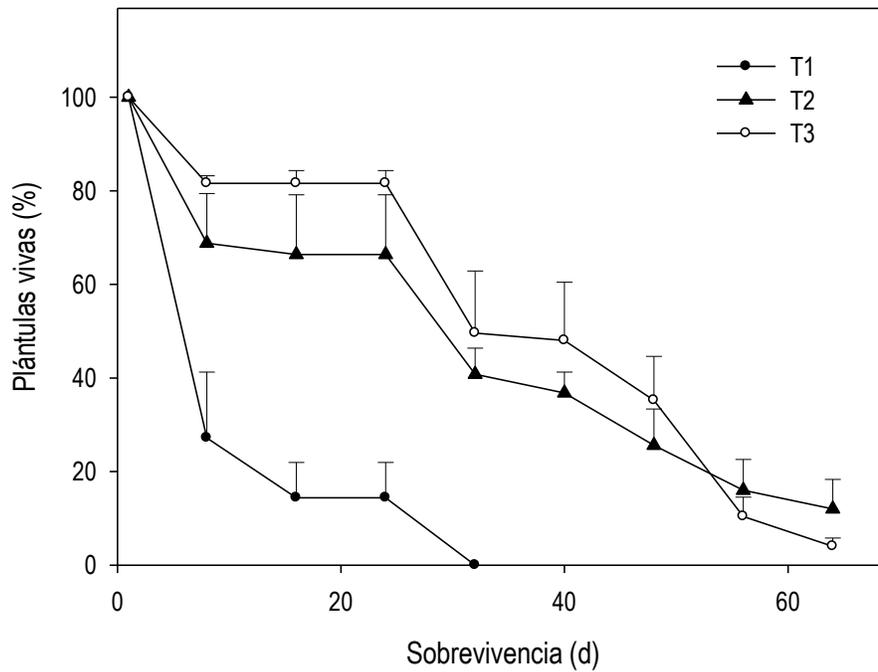


Figura 6.7. Sobrevivencia de plántulas de *Tillandsia limbata* en los siguientes Tratamientos (T): T1= Ciprés, T2= fibra de coco y vermiculita (1:3), T3= fibra de coco y vermiculita (3:1). Las barras sobre los puntos representan el error estándar, n= 12 unidades experimentales.

El tiempo que tardó cada uno de los tratamientos en llegar al 50 % de plántulas vivas de *T. limbata* (Figura 6.8), muestra que el mejor tratamiento fue el de fibra de coco y vermiculita (3:1) ($p \leq 0.05$).

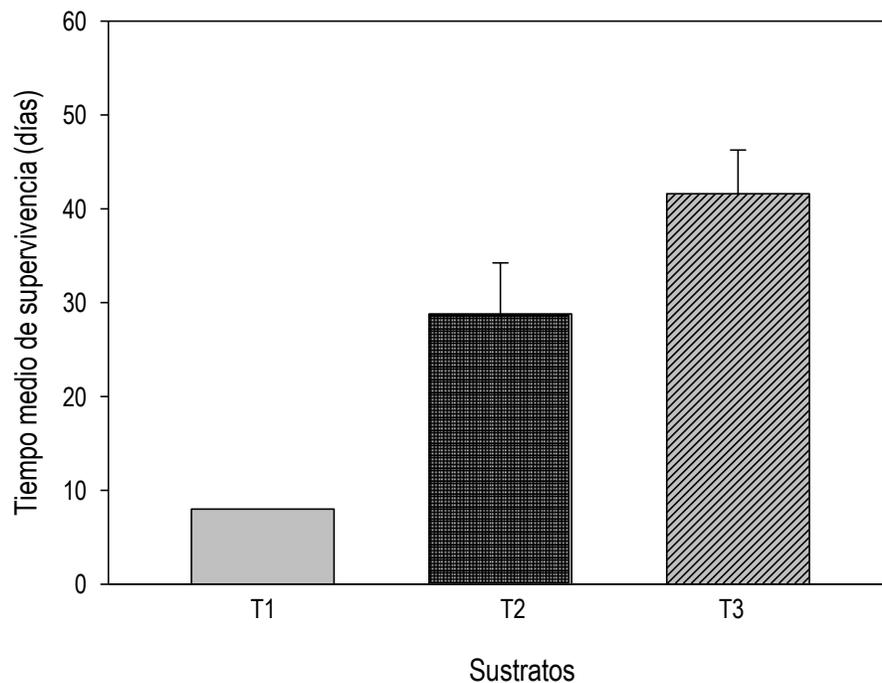


Figura 6.8. Tiempo medio de supervivencia de *Tillandsia limbata* en diferentes tratamientos (T): T1= Ciprés, T2= fibra de coco y vermiculita (1:3), T3= fibra de coco y vermiculita (3:1). Las barras sobre los puntos representan el error estándar, n= 12 unidades experimentales.

6. 5 DISCUSIÓN

El sustrato es determinante para la supervivencia de plántulas de *H. myriantha* ya que ninguno de los sustratos estudiados se mantuvo estable en porcentaje de plántulas vivas. En este estudio, los porcentajes de germinación de semillas de *H. myriantha* tuvieron un rango de 40-88 % de semillas germinadas.

Los resultados reportados por Andrade *et al.* (2008) con semillas de papaya (*Carica papaya* L.) coincidieron con los aquí obtenidos, en cuanto a que el tipo de sustrato no tiene efecto en la germinación de semillas; no obstante, la emergencia del 84.5 % de plántulas se obtuvo con el sustrato preparado con fibra de coco (*Cocos nucifera* L.) y aserrín en proporción 7:3.

Rodríguez *et al.* (2005) mostraron que el sustrato de fibras de coco (*Cocos nucifera* L.) fue idóneo en la adaptación de las orquídeas epífitas *Oncidium luridum* y *Encyclia phoenicea* ya que al evaluar supervivencia, este sustrato mostró un 99 % de plántulas vivas en *Encyclia phoenicea* y un 86 % en *Oncidium luridum* en comparación con el uso de musgo (*Sphagnum sp.*) como sustrato, donde el porcentaje de supervivencia en ambos casos fue de 0%. Lo que indica que la fibra de coco (*Cocos nucifera* L.) utilizada en otras especies han tenido efectos positivos significativos en su adaptación, situación que no ocurre en el caso de plántulas de *H. myriantha* en las proporciones utilizadas.

Sánchez (2008) evaluó la supervivencia de plántulas de *Palownia tomentosa* en 13 sustratos y obtuvo que varios sustratos fueron adecuados para un mayor porcentaje de plantas vivas, entre ellos están: tezontle y composta (3:1), agrolita y turba (1:3), agrolita y turba (2:2), agrolita y turba (3:1), tezontle, bagazo y suelo (2:1:1), tezontle, bagazo y suelo (1:2:1) y bagazo, que tuvieron 100 % de sobrevivencia a los 12 d. Los valores más bajos de sobrevivencia para agrolita y composta (1:3) y composta y suelo (2:2) a los 12 d fueron con 66 % de plántulas vivas. En la presente investigación para plántulas de *T. limbata* los resultados fueron contrastantes a los 12 d: en el sustrato de Ciprés el porcentaje de plántulas vivas fue de 20 %, en fibra de coco y vermiculita (1:3) el porcentaje de plántulas vivas fue de 70% y en fibra de coco y vermiculita (3:1) el porcentaje de plántulas vivas fue de 82%.

Sánchez (2008) Afirma que existe alta especificidad de las plántulas para lograr una mayor sobrevivencia en función del sustrato. Esta especificidad es en cuanto al tipo de sustrato

en el cual se desarrollan las plántulas de *Tillandsia limbata* y se corrobora con los resultados obtenidos en este estudio.

6.6 CONCLUSIONES

Se concluye que los sustratos utilizados en el experimento, no tienen un efecto significativo en la germinación de semillas, ni en la sobrevivencia de las plántulas de *H. myriantha*. Por lo que para el caso de germinación cualquiera de los sustratos puede ser utilizado, mientras que para sobrevivencia de plántulas no se recomiendan estos sustratos.

La sobrevivencia de plántulas de *Tillandsia limbata* es afectada significativamente por el tipo de sustrato. La fibra de coco y vermiculita en proporción 3:1, favorece un porcentaje mayor (21%) de plántulas vivas de *T. limbata* hasta los 42 d.

6.7 LITERATURA CITADA

- Andrade, R.M.; Ayala, H.J.J.; Alia, T.I.; Rodríguez, M.H.; Acosta, D.C.M.; López, M.V. 2008. Efecto de promotores de la germinación y sustratos en el desarrollo de plántulas de papayo. *Revista de la Facultad de Agronomía Luz*. 25(1): 617-635.
- Hartmann, H.T.; Kester, D.E. 2002. *Plant propagation. Principles and practices*. Prentice Hall. 662 p.
- Iglesias, G.L.; Alarcón, B.M. 1994. *Preparación de sustratos artificiales para la producción de plántulas en vivero*. New Jersey. 880 p.
- Rodríguez, L.; González, R.; Díaz, A.; Fajardo, E.; Sánchez, E.; Hernández, J.; Castañeira, M.A.; De La Cruz, G.; González J. 2005. *Producción y recuperación de orquídeas silvestres cubanas*. Disponible en: www.dama.gov.co Consultado el 19/08/2013.
- Rosenblueth, M.; Martínez, J.; Martínez, E. 2001. *Ecología química en la rizósfera y en la simbiosis de las plantas*. En Anaya, A.L.; Espinosa, G.F.J.; Cruz, O.R. (Eds.). *Relaciones químicas entre organismos: aspectos básicos y perspectivas de su aplicación*. Plaza y Valdes Editores, México pp. 33–67.
- Sánchez, B.J. 2008. *Aclimatización de plantas de Paulownia (palownia tomentosa) en 13 sustratos*. Tesis de maestría, Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. 86 p.
- Serrada, R. 2008. *Apuntes de Selvicultura*. Servicio de Publicaciones. EUIT Forestal. Madrid. 24 p.

CAPÍTULO VII. SOBREVIVENCIA DE PLÁNTULAS DE *Tillandsia limbata*, *T. botterii* y *Hechtia myriantha* EN FUNCIÓN DEL GÉNERO, LA ESPECIE Y LA INTENSIDAD LUMINOSA

7.1 RESUMEN

La supervivencia de plántulas se ven afectadas directamente por las condiciones ambientales. El objetivo de este estudio fue determinar si la intensidad luminosa tienen un efecto en la supervivencia de plántulas de *Tillandsia limbata*, *T. botterii* y *Hechtia myriantha*. Bajo la premisa de que las plántulas del género *T.* y *H. myriantha* tendrán una supervivencia estable en intensidades luminosas diferentes. Las semillas de *Tillandsias* y *Hechtias* se germinaron en cajas petri, en una cámara de ambiente controlado a 25 °C y fotoperiodo neutro (12 h luz, 12 h oscuridad). Las plántulas del género *Tillandsia* se colocaron en esferas fabricadas con un conglomerado de paja, envuelto en velo y se colocaron suspendidas mediante alambre galvanizado. Las plántulas de *H. myriantha* se colocaron en recipientes de plástico de 10 por 10 cm, con sustrato de origen calizo y fibra de coco (1:1). Los tratamientos que se utilizaron en cada una de las especies fueron 1.8, 4.0, 7.0 y 12.0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Se utilizó el diseño completamente al azar con tres repeticiones y 12 tratamientos: cuatro intensidades luminosas y tres especies. Los mejores tratamientos para plántulas de *T. limbata* fue la intensidad luminosa de 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y 1.8 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las plántulas de *T. botterii* y *Hechtia myriantha* no son afectadas significativamente por las intensidades luminosas estudiadas, mientras que las plántulas de *T. limbata* muestra un efecto significativo en su supervivencia, en intensidades luminosas contrastantes.

Palabras clave: supervivencia, plántulas, semillas, temperatura, intensidad luminosa.

SEEDLING SURVIVAL OF *Tillandsia limbata*, *T. botterii* and *Hechtia myriantha* AS A
FUNCTION OF THE GENERA, SPECIE AND THE LIGHT INTENSITY.

ABSTRACT

The seedling survival is affected by the environmental conditions. The aim of this study was to assess the effect of the light intensity on the survival of seedlings of *Tillandsia limbata*, *T. botterii* and *Hechtia myriantha*. The hypothesis was that the seedlings of the genera *T.* and *H. myriantha* will have a stable time of survival on the different light intensities. Seeds were grown on petri dishes at 25°C and neutral photoperiod. The seedlings of the genera *Tillandsias* were placed on a sphere made of a conglomeration of straw wrapped with a cloth veil and placed pended by galvanized wire. Seedlings of *H. myriantha* were placed in plastic containers of 10x10 cm, with soil as substrate and coconut fiber (1:1). The treatments were as following: 1.8, 4.0, 7.0 and 12.0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A completely randomized design was used with tree replications and 12 treatments: four light intensities and three species. It was concluded that for seedlings of *T. limbata* the best treatments were at 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and 1.8 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The seedlings of *T. botterii* and *Hechtia myriantha* were not affected by the light intensities, but seedlings of *T. limbata* showed a significant effect on the seedling survival at contrasting light intensities.

Keywords: survival, seedlings, seeds, temperature, light intensity.

7.2 INTRODUCCIÓN

La emergencia y establecimiento de la plántula son etapas críticas en el ciclo de vida de las plantas (Harper, 1977). La luz es de los factores ambientales que influyen sobre la emergencia, desarrollo, establecimiento y supervivencia de las plántulas (Sanchez *et al.*, 2008). Vadillo *et al.* (2004) reportaron que la utilización de la luz y la temperatura, en diferentes especies, favorecen su coexistencia en espacio y tiempo. Sin embargo, se desconoce el efecto de la luz en la supervivencia de las plántulas de bromelias obtenidas por semilla. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la luz en la supervivencia de las plántulas de *T. limbata*, *T. botterii* y *H. myriantha*. Con la hipótesis de que las intensidades luminosas mínimas estudiadas, favorecerán la sobrevivencia de las plántulas de las bromelias.

7.3 MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en las cámaras con ambiente controlado en el Postgrado de Botánica del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Semillas de *T. limbata* schldl, *T. botterii* E. Mowen ex Baker y *H. myriantha* Mez. se utilizaron en el estudio.

Las semillas de *T. limbata* y *T. botterii* se recolectaron como se describió en el Capítulo III de esta tesis.

7.3.1 Germinación de semillas de *Tillandsia* y *Hechtia*.

Las semillas de las *Tillandsias* y *Hechtia* se germinaron en 12 cajas petri (cuatro por especie) con algodón y papel filtro (50 semillas en cada caja petri). Se utilizó 60 mL de agua destilada para humedecer cada caja petri. Esto se realizó en una cámara con ambiente controlado a 25 °C y fotoperiodo neutro (12 horas luz, 12 horas oscuridad). Una vez germinadas las semillas (a los 15 d), las plántulas con un crecimiento de 3 mm en hojas de *Hechtias* y 1 mm en hojas de *Tillandsias*, se trasplantaron al sistema de crecimiento para que se desarrollen.

7.3.2 Sistema de crecimiento a utilizar para evaluar sobrevivencia en *Tillandsia limbata* y *T. botterii*

Considerando que estas plantas son epifitas, a los 20 d de haberse puesto a germinar las semillas, las plántulas se colocaron en una esfera fabricada con un conglomerado de 60 g de paja (diámetro de 15 cm), alrededor de una esponja de 5 por 5 cm y envuelta con tela de velo (Figura 7.1).

En esta etapa tres esferas de paja por especie con 25 plántulas se colocaron suspendidas y sostenidas con alambre galvanizado e incluyeron los tratamientos del Cuadro 1.



Figura 7.1 Conglomerado de paja utilizado para crecer y evaluar la sobrevivencia de plántulas de *Tillandsia limbata*

7.3.3 Sustrato a utilizar para evaluar sobrevivencia en *H. myriantha*

Considerando que estas especies son terrestres, a los veinte días del inicio de la germinación las plántulas se trasplantaron y se colocaron en recipientes de plástico de 10 por 10 cm, con sustrato origen calizo (se tomó en el lugar en de recolecta de las plantas y en el que crecen de manera natural) y fibra de coco en proporciones 1:1, siguiendo los tratamientos del Cuadro 1.

Cuadro 1. Tratamientos ensayados.

Factor	Niveles	Descripción de tratamientos	Clave
Especie	<i>T. limbata</i>	<i>T. limbata</i> a 1.8	T1
		<i>T. limbata</i> a 4	T2
	<i>T. botterii</i>	<i>T. limbata</i> a 7	T3
		<i>T. limbata</i> a 12	T4
	<i>H. myriantha</i>	<i>T. botterii</i> a 1.8	T5
		<i>T. botterii</i> a 4	T6
Intensidades luminosas ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	1.8	<i>T. botterii</i> a 7	T7
		<i>T. botterii</i> 12	T8
	4	<i>H. myriantha</i> a 1.8	T9
		<i>H. myriantha</i> a 4	T10
	7	<i>H. myriantha</i> a 7	T11
		<i>H. myriantha</i> a 12	T12

H= *Hechtia* T=*Tillandsia*

7.3.4 Diseño experimental

Se utilizó el diseño completamente al azar con 12 tratamientos: intensidad luminosa (1.8, 4, 7 y 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y especie (*T. limbata*, *T. botterii* y *H. myriantha*) y tres repeticiones (con 25 plántulas cada una). Se compararon las medias con la prueba de Tukey $\alpha= 0.05$, con los datos obtenidos a los 25 d de sobrevivencia. Debido a que el tamaño de plántulas de cada especie fue diferente al inicio de los tratamientos se analizaron los tratamientos por separado.

7. 4 RESULTADOS

El porcentaje de germinación de 72 a 93% de las semillas de *T. limbata*, *T. botterii* y *H. myriantha* permitió la obtención de la cantidad adecuada de plántulas de cada especie, para la evaluación del efecto de la luz en la sobrevivencia de las plántulas (Figura 7.2).

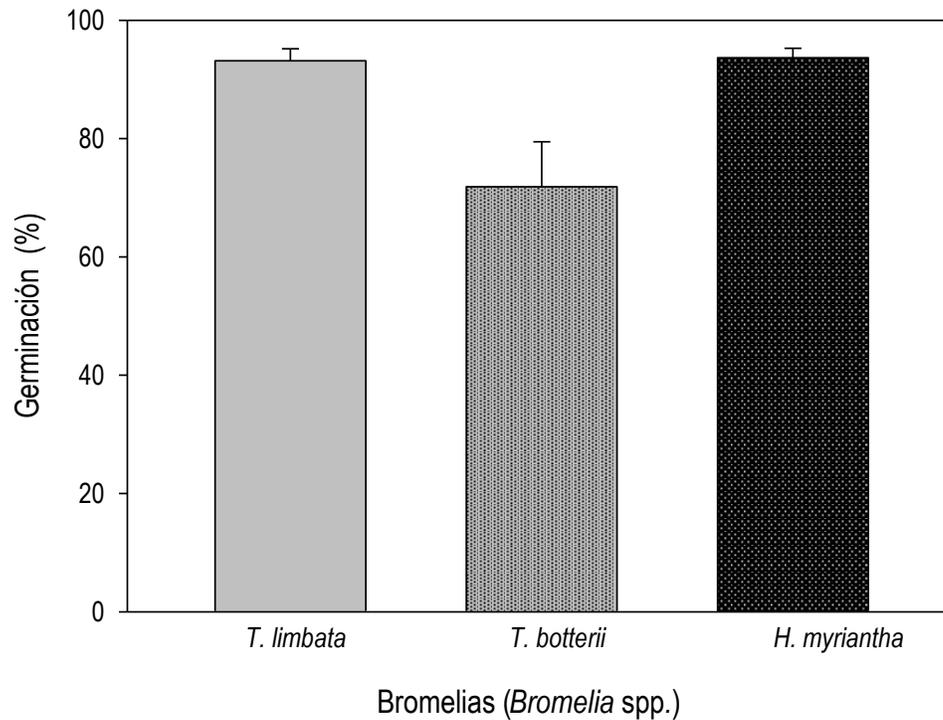


Figura 7.2. Porcentaje de germinación, a los 15 días de embeber las semillas, a 25°C y 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de: *Tillandsia limbata*, *T. botterii* y *Hechtia myriantha* . Las barras sobre las columnas representan el error estándar, n= 12 unidades experimentales.

La sobrevivencia de las plántulas de *T. limbata* fue significativa ($p \leq 0.05$) a $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Mientras que en los tratamientos que incluyeron *T. botterii* y *H. myriantha* no hubo diferencias mínimas significativas ($p > 0.05$) con ninguna de las intensidades luminosas estudiadas (Figura 7.3).

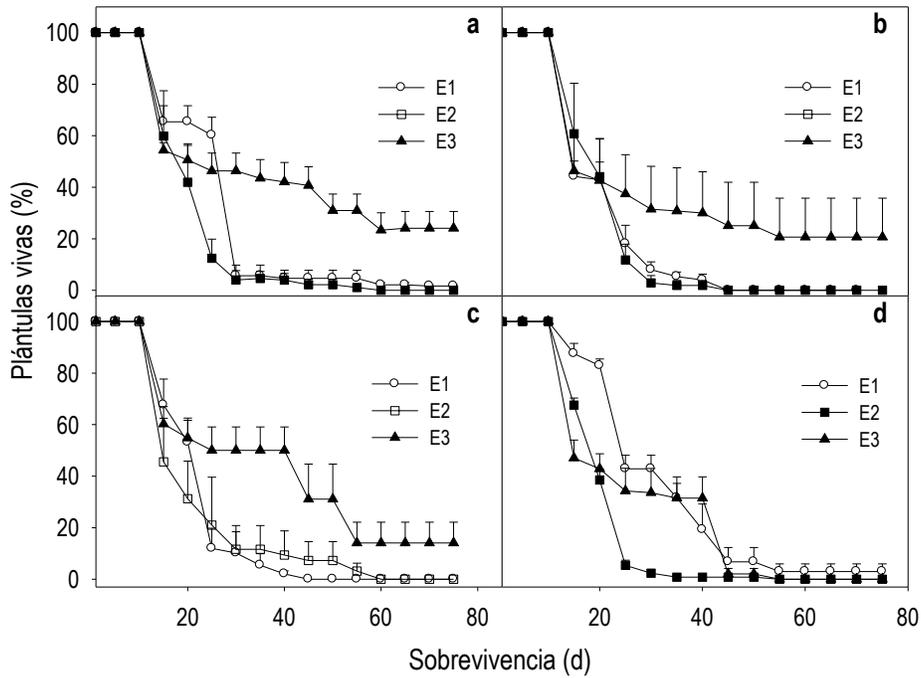


Figura 7.3. Sobrevivencia de plántulas, de 20 d de edad, de: *Tillandsia limbata* (E1), *T. botterii* (E2) y *Hechtia myriantha* (E3) con intensidad luminosa de $1.8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (a), intensidad luminosa de $4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (b), intensidad luminosa de $7 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (c) e intensidad luminosa de $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (d). Las barras sobre los puntos representan el error estándar, $n= 36$ unidades experimentales.

El tiempo que tardaron las plántulas de *T. limbata*, *T. botterii* y *H. myriantha* en llegar al 50 % de plantas vivas, en cada una de las intensidades luminosas estudiadas (Figura 7.3), no tuvo diferencias mínimas significativas ($p > 0.05$).

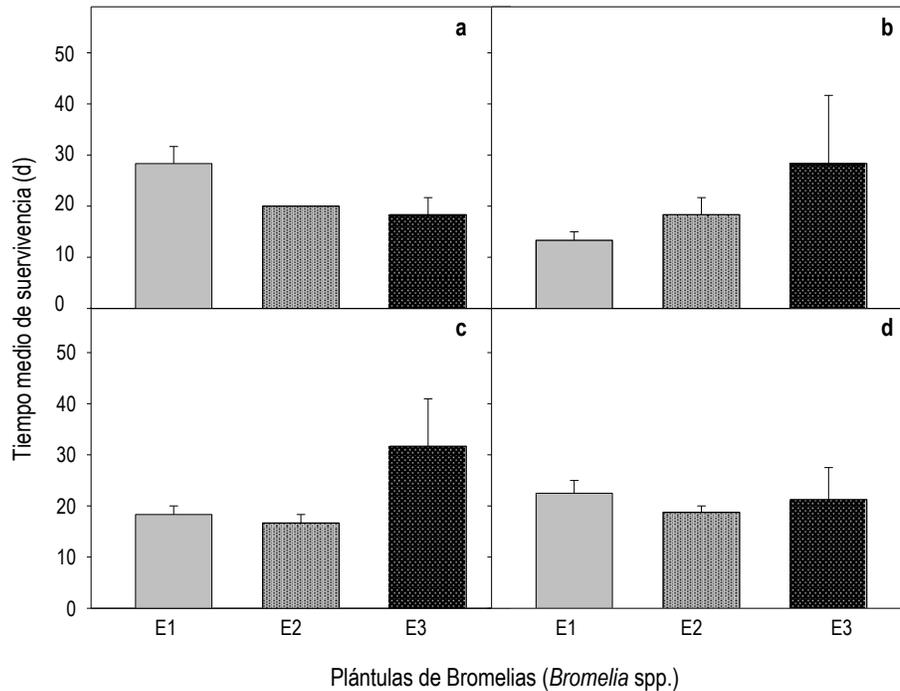


Figura 7.4. Tiempo medio de supervivencia de plántulas de: *T. limbata* (E1), *T. botterii* (E2) y *H. myriantha* (E3), con intensidad luminosa de 1.8 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (a), 4 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (b), 7 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (c) y 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (d). Las barras sobre los puntos representan el error estándar, $n= 36$ unidades experimentales.

En este ensayo se simuló las condiciones en las que se desarrollan las plántulas de *Tillandsia* en manera natural, por lo que se suspendieron en un conglomerado de paja; sin embargo, el manejo de un sustrato de estas características y el riego frecuente, dificultó el manejo y en algunos casos, se contaminó por hongos.

7.5 DISCUSIÓN

Las medias mayores fueron con las intensidades luminosas de 7 y 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A pesar de que las irradiancias evaluadas fueron bajas (1.8, 4, 7 y 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), comparadas con las naturales (800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, con cielo despejado, entre las 11 y 13 h, y entre mayo y junio en Montecillos, Estado de México). Venier *et al.* (2013) obtuvieron los porcentajes menores de supervivencia de *Acacia atramentaria* en los tratamientos con irradiancia disminuida (sombra), y *A. aroma* mostró el porcentaje menor de supervivencia con luz. Estos resultados indican que la luz como factor regulador de la sobrevivencia de las plántulas de otras familias diferentes a las incluidas en el estudio presente es dependiente del género y de la especie. Los resultados obtenidos en las bromelias estudiadas (*T. limbata*, *T. botterii* y *Hechtia myriantha*), a pesar de pertenecer a distinto género y especie, indican que requieren intensidades luminosas mayores que 7 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

7.6 CONCLUSIÓN

La intensidad luminosa tiene un efecto positivo, en la sobrevivencia de las plántulas de las especies *Tillandsia* y *Hechtia*.

7.7 LITERATURA CITADA

- Harper, J. 1977. Population Biology of Plant. School of Plant Biology. Academic, Londres, Inglaterra. 892 p.
- Sánchez, G.D.; Zavala, M.A.; Valladares, F. 2008. Funcional traits and plasticity linked to seedlings performance under shade and drought in Mediterranean woody species. *Annals of Forest Science* 65(1): 311.
- Vadillo, G.; Suni, M.; Cano, A. 2004. Viabilidad y germinación de semillas *Puya raimondii* Harms (Bromelaceae). *Revista Peruana de Biología* 11(1): 71-78.
- Venier, P.; Cabido, M.; Mangeaud, A.; Funes, G. 2013. Crecimiento y supervivencia de plántulas de cinco especies de Acacia (Fabacea), que coexisten en bosques secos neotropicales de Argentina, en distintas condiciones de disponibilidad de luz y agua. *Revista de Biología Tropical* 61(2): 501- 514.

CAPÍTULO VIII. DISCUSIÓN GENERAL Y RECOMENDACIONES

Las condiciones óptimas de temperatura, luz y nutrimentos en el ambiente para la germinación de las semillas de la familia Bromeliaceae y para la supervivencia y desarrollo de sus plántulas es contrastante entre las especies. Jara *et al.* (2006) estudiaron el efecto de la luz y la temperatura en la germinación de seis especies herbáceas y determinaron la especificidad que tiene cada una de las especies a la luz y la temperatura. Las semillas de *P. salsoloides* y *P. amoena* inician la germinación a 25 °C, a diferencia de las semillas de *L. purpurea*, *P. coerulea* y *T. plumosum* la inician a 10 °C. Además, las semillas de *L. purpurea*, *P. amoena* y *T. plumosum* son fotoblásticas positivas y contrastan con *L. purpurea* y *P. coerulea* por que éstas últimas son fotoblásticas negativas.

Lo anterior fue comprobado en el presente estudio; donde, temperatura e intensidad luminosa, en general tuvieron efectos similares en la germinación de las semillas y supervivencia y crecimiento de las plántulas; además, el enriquecimiento del medio con solución nutritiva también afectó diferentemente a las plántulas de las especies. Sin embargo, también se observaron algunas tendencias de similitud. La temperatura a la cual las semillas de *H. myriantha* y de las especies de *Tillandsia* germinaron sincrónicamente y alcanzaron los porcentajes mayores fue 25 °C.

En relación con el efecto de la intensidad luminosa en la supervivencia de las plántulas, de las tres especies Bromeliaceae, se observó que 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fue óptima cuando se modificaron otros factores, como la temperatura o los nutrimentos del medio (Figuras 5.7 y 5.8).

En contraste, el ensayo diseñado *ex profeso* para evaluar el efecto de la intensidad luminosa en la supervivencia de las plántulas (Figura 7.3) y el tiempo medio de supervivencia (Figura 7.4) mostró que las plántulas de *H. myriantha* fueron menos afectadas ($p \leq 0.05$) por las intensidades luminosas entre 1.8, 4.0, 7.0 y 12.0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ que *T. limbata* y *T. botterii*. Estas dos especies también fueron afectadas por la intensidad luminosa, pero sin un patrón identificado.

En términos generales, la calidad fisiológica y el estado de madurez de las semillas de las especies incluidas en el estudio permitieron la realización adecuada del estudio de germinación y supervivencia de las plantas. Respecto a las características de las semillas, Alzugaray *et al.* (2007) demostraron el impacto de las condiciones ambientales sobre las plantas madre que

afectan directamente la germinación de sus semillas, encontrando que las semillas de *Schinopsis balansae* cosechadas en 1999, de plantas que permanecieron en ambiente con temperatura media anual de 20.1 °C y precipitación promedio anual de 807.2 mm³, tuvieron germinación de 77 %. En contraste, las semillas cosechadas en los años 2000 y 2001, de plantas en ambiente con temperatura media anual de 20.0 y 20.7 °C y precipitación media anual de 1,196 y 1,439.4 mm³, tuvieron porcentaje de germinación de 27 %.

La prueba de tetrazolio permitió conocer la calidad germinativa de las semillas de *H. perotensis*. La prueba topográfica de tetrazolio debe ser adaptada a cada tipo de semilla, y el resultado dependerá de factores diversos, como las características de las semillas, del pre-acondicionamiento, de la extracción adecuada del embrión, de la temperatura a la que se realice la prueba y la concentración de tetrazolio. En este estudio, aunque las concentraciones de tetrazolio seleccionadas (entre 0.2 y 2 %) fueron adecuadas, se concluyó que 0.5 % permitió la tinción adecuada de los embriones y la evaluación correcta de los mismos. De Souza *et al.* (2012) señalaron que para la evaluación correcta de semillas de cebada (*Hordeum vulgare* L.) con la prueba topográfica de tetrazolio la concentración adecuada es 1.0 % y que para cada especie existen especificaciones para la realización de la prueba topográfica de tetrazolio.

Un protocolo de viabilidad adecuado como el utilizado en semillas de *H. perotensis* tiene ventajas, ya que es una alternativa prometedora para la evaluación de la viabilidad y el vigor de las semillas; además, la evaluación de la viabilidad se recomienda para las semillas que van a ser sembradas inmediatamente después de la cosecha y para complementar los resultados de la prueba de germinación de las semillas que tienen latencia (Jácome y Dos Santos, 2010).

El sustrato es importante para la sobrevivencia de las plántulas; sin embargo, sólo tuvo efectos significativos ($p \leq 0.05$) en la sobrevivencia de plántulas de *T. limbata*, las que se desarrollaron adecuadamente en el sustrato de fibra de coco (*Cocos nucifera* L.) y vermiculita en proporción 3:1. Rivera (2011) encontró que el sustrato mejor para el desarrollo de vitroplantas de caña, fue la mezcla de tezontle con cascarilla de arroz (*Saccharum officinarum* L.). Lo anterior muestra que el uso de sustratos de origen natural y mezclados suelen funcionar exitosamente.

El efecto de la nutrición no se había estudiado en plántulas de *T. limbata* y *T. botterii*, en este estudio la solución Steiner al 100% parece haber provocado que las plántulas murieran aceleradamente, en comparación con las que se mantuvieron regadas con agua destilada. Aunque, se desconoce la causa de este efecto, probablemente la concentración no es la adecuada

para las plántulas de 80 d de edad; sin embargo, las plántulas de *T. limbata* incrementaron significativamente ($p \leq 0.05$) su altura y su diámetro con la esa solución nutritiva. Esto último coincide con las observaciones de Luna *et al.* (2010), quienes obtuvieron incremento significativo del área foliar y del volumen de la raíz de plántulas de *Musa* spp. con solución Steiner al 100%.

Para que la germinación de las semillas de *T. limbata*, *T. botterii* y *H. myriantha* se inicie a los 8 d y homogéneamente es necesario germinarlas a 25 °C con intensidades luminosas mayores o iguales a 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. En esta etapa es importante que el material utilizado se desinfeste con una solución de agua destilada y hipoclorito de sodio al 1 %, teniendo cuidado especial en la limpieza de la cámara para el cultivo (de preferencia que sea de acero inoxidable o que la pintura dentro de ella esté intacta), cuidando que no tenga residuos de polvo, óxido o cualquier otro agente contaminante. Las semillas de *T. limbata*, *T. botterii* y *H. myriantha* germinaron adecuadamente en cajas petri. Es importante colocar las cajas petri cerradas dentro de una bolsa plástica transparente para que la humedad dentro de las cajas se mantenga y la luz ilumine las semillas. En el caso de *T. limbata*, *T. botterii*, *H. myriantha* y *H. perotensis* se observó que no requirieron la presencia de solución nutritiva para incrementar germinación de las especies en estudio. El protocolo de la prueba topográfica de tetrazolio aplicada a las semillas de *H. perotensis* fue adecuado, la fibra de coco y vermiculita en proporción 3:1, para la supervivencia de las plántulas de *T. limbata* tuvo efectos positivos en el porcentaje de plántulas vivas, y en cualquier caso fue necesario mantener el sustrato en punto de saturación, sin compactar y nivelado para evitar la acumulación del agua en algunas zonas, o propiciar el drenaje adecuado. Se recomienda el uso de charolas plásticas, para conservar la humedad en las charolas se recomienda colocarlas en cámaras, a 25 °C e intensidad luminosa de a 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las plántulas de *T. limbata*, *H. myriantha* y *T. botterii* también puede mantenerse vivas sobre una capa de algodón, papel filtro y tul en cajas petri cerradas dentro de bolsas translúcidas, a 25 °C e intensidad luminosa de a 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. No se recomienda el uso de sustratos naturales, como paja de trigo, por la susceptibilidad elevada a la contaminación con hongos, aunque se desinfeste previamente.

La temperatura óptima para la sobrevivencia de las plántulas de *T. limbata*, *T. botterii* y *H. myriantha* está entre 15 y 25 °C; y si las plántulas se colocan en trozos de tul suspendidos,

cubiertos con bolsas plásticas transparentes, se recomienda mantenerlas a 15 °C e intensidad luminosa de a $12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

El uso de solución Steiner al 100 % en plántulas de *T. limbata* y *T. botterii* (con 80 d de sobrevivencia o menos) no es recomendable.

Debido a la susceptibilidad de las plántulas en la etapa inicial de su desarrollo, se recomienda que cada factor sea estudiado y controlado en laboratorio antes de implementarse la multiplicación con fines comerciales en cada especie de la familia Bromeliaceae.

8.1 LITERATURA CITADA

- Alzugaray, C.; Carnevale, J.N.; Salinas, R.A.; Pioli, R. 2007. Factores bióticos y abióticos que afectan la calidad de las semillas de *Shinopsis balansae* Engl. y *Aspidosperma quebracho- blanco* Schltld. Revista Iberoamericana de Micología 24: 142-147.
- De Souza, G.C.R.; De Castro, O.O.; Carvalho, D.S.R.; Panobianco, M. 2012. Viability of barley sedes by the tetrazolium test. . Revista Brasileira de Sementes 34(1): 47-52.
- Jácome, C.C.; Dos Santos, C.P. 2010. Teste de tetrazólio em sementes de *Leucena*. Revista Brasileira de Sementes 32(2): 66-72
- Jara, P.A.; Gina, A.; Moreno, E.; Carmona, M.R. 2006. Factores abióticos que influncian la germinación de seis especies herbáceas de la zona árida de Chile. Revista Chilena de Historia Natural 79: 309-319.
- Luna, R.M.R; del Valle, E.J.R.; Velasco, V.A.V.; Chávez, S.J.L. 2010. Efecto del sustrato y fertirriego en el crecimiento inicial de vitro-plantas de *Musa* sp. cv. Roatán. Naturaleza y Desarrollo 8(2): 39-48.
- Rivera, O.L.Y. 2011. Aclimatación de vitroplantas y tolerancia a cadmio en caña de azúcar. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillos, Texcoco, Estado de México. 125 p.