



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

**Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral  
Regional, Unidad Oaxaca**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE  
RECURSOS NATURALES  
(Patrones y Procesos para la Biodiversidad del Neotrópico)**

**“Efecto de las condiciones de almacenamiento en la germinación de  
semillas de *Tillandsia spp.* (Bromeliaceae)”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**PRESENTA**

**Diana María Sosa Luría**

**Directores:**

**Dra. Demetria Martha Mondragón Chaparro  
Dr. José Luis Chávez Servia**

**Santa Cruz Xoxocotlán Oaxaca. Diciembre 2011**



**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL**  
**SECRETARIA DE INVESTIGACION Y POSGRADO**  
**ACTA DE REVISION DE TESIS**

En la Ciudad de Oaxaca de Juárez siendo las 13:00 horas del día 25 del mes de noviembre del 2011 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación del **Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca (CIIDIR-OAXACA)** para examinar la tesis de grado titulada: "Efecto de las condiciones de almacenamiento en la germinación de semillas de *Tillandsia* spp. (Bromeliaceae)"

Presentada por el alumno:

Sosa  
Apellido paterno

Luría  
materno

Diana María  
nombre(s)

Con registro: 

B	0	9	1	5	0	5
---	---	---	---	---	---	---

aspirante al grado de: **MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

**LA COMISIÓN REVISORA**

Directores de tesis

Dra. Demetria Martha Mondragón  
Chaparro

Dr. José Luis Chávez Servia

Dr. Enrique Ramírez Vallejo

Dr. Rafael Felipe del Castillo Sánchez

Dr. Aniceto Rodolfo Solano Gómez

**PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES**

  
Dr. Juan Rodríguez Ramírez

CENTRO INTERDISCIPLINARIO  
DE INVESTIGACION PARA EL  
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL  
C.I.I.D.I.R.  
UNIDAD OAXACA  
I.P.N.

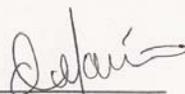


**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

*CARTA CESION DE DERECHOS*

En la Ciudad de Oaxaca de Juárez el día 25 del mes noviembre del año 2011, el (la) que suscribe Sosa Luría Diana María alumno (a) del Programa de **MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES** con número de registro **B091505**, adscrito al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de los Dres. Demetria Martha Mondragón Chaparro y José Luis Chávez Servia y cede los derechos del trabajo titulado: **"Efecto de las condiciones de almacenamiento en la germinación de semillas de *Tillandsia* spp. (Bromeliaceae)"** al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección **Calle Hornos 1003, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca**, e-mail: [posgradoax@ipn.mx](mailto:posgradoax@ipn.mx) ó [diana\\_sosa22@hotmail.com](mailto:diana_sosa22@hotmail.com) Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

  
\_\_\_\_\_  
Sosa Luría Diana María



CENTRO INTERDISCIPLINARIO  
DE INVESTIGACION PARA EL  
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL  
C.I.I.D.I.R.  
UNIDAD OAXACA  
I.P.N.

## RESUMEN

La familia Bromeliaceae se encuentra ampliamente distribuida en México, el género *Tillandsia* es el más diverso (192 especies) presentando alto endemismo. El género se caracteriza por brácteas y escapo floral con inflorescencias llamativas; las plantas de *Tillandsia* con inflorescencias de colores tienen una alta demanda comercial en los mercados regionales y provoca fuertes presiones por extracción ilegal de poblaciones silvestres, aunado con la pérdida de su hábitat. Esta problemática ha puesto en peligro de extinción a muchas de ellas, razón por la que es importante formular estrategias y acciones de conservación. De febrero a junio de 2010 en los bosques templados de Santa Catarina Ixtepeji, Sierra Norte del estado de Oaxaca, México. Se colectaron semillas de *Tillandsia prodigiosa*, *T. bourgaei*, *T. carlos-bankii*, *T. fasciculata*, *T. makoyana*, *T. violacea*, se evaluó la calidad física y capacidad germinativa a través de rayos X y una prueba de germinación para estimar la calidad de las semillas. Se presentaron diferencias significativas en la proporción de semilla completas (viables) e incompletas. En la cantidad de semillas vanas no se presentaron diferencias significativas. Las especies evaluadas presentaron diferencias en su capacidad germinativa. El patrón de germinación se repitió en la tasa de germinación. La proporción de semillas completas (análisis radiográfico) y la capacidad germinativa mostraron una correlación positiva y significativa.

Posteriormente con el fin de conocer el comportamiento de almacenamiento, se evaluó la capacidad germinativa en función de la pérdida de humedad en una prueba de desecación a 60° C. Inicialmente las semillas presentaron 72.4% de germinación en promedio, cuando la humedad bajó a 3.3% la germinación permaneció en aproximadamente 30%, por tanto se clasifican como ortodoxas, debido a que pueden ser desecadas y almacenadas sin una pérdida drástica de viabilidad.

En una tercera fase con el objetivo de evaluar la temperatura y tiempo de almacenamiento se evaluó el efecto en la germinación de cuatro temperaturas de almacenamiento (-20°C, 0°C y 10°C más un testigo a temperatura ambiente), cada tres meses (de 0 a 12 meses). Para determinar si existían diferencias estadísticamente significativas en la capacidad germinativa entre las especies, tiempos y temperatura de almacenamiento; a los datos estandarizados se les practicó un análisis de varianza. Cuando hubo diferencias significativas entre los factores de variación se hizo una comparación múltiple de medias por la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). Se presentaron diferencias significativas en los factores evaluados. No hubo pérdida de viabilidad de cinco de las seis especies evaluadas a los 12 meses de almacenamiento, por tanto las semillas de *Tillandsia* pueden ser almacenadas, preferentemente a bajas temperaturas sin que se afecte su capacidad germinativa.

## ABSTRACT

The family Bromeliaceae is widely distributed in Mexico, the genus *Tillandsia* is the most diverse (192 species) showing high endemism. The genus is characterized by bracts and flower stalk with showy inflorescences, *Tillandsia* plants with inflorescences of colors have a high market demand in regional markets and causes severe poaching pressure on wild populations, coupled with the loss of their habitat. This problem has endangered many of them, which is why it is important to develop strategies and conservation actions. From February to June 2010 in the temperate forests of Santa Catarina Ixtepeji, Sierra Norte of Oaxaca, Mexico. Seeds were collected *Tillandsia prodigiosa*, *T. bourgaei*, *T. carlos-bankii*, *T. fasciculata*, *T. makoyana*, *T. violacea*, were evaluated for physical quality and germination capacity through X-rays and a germination test to estimate the quality of seeds. Significant differences in the proportion of full seed (viable) and incomplete. The number of empty seeds did not show significant differences. The evaluated species differed in their germination capacity. The germination pattern was repeated in the germination rate. The proportion of full seeds (radiographic analysis) and germination showed a significant positive correlation.

Subsequently, in order to understand the behavior of storage, germination capacity was evaluated in terms of moisture loss in a test of drying at 60 °C. Initially seed germination showed 72.4% on average, when the humidity dropped to 3.3% germination remained at approximately 30%, so are classified as orthodox, because they can be dried and stored without a drastic loss of viability.

In a third phase in order to evaluate the temperature and storage time, the effect on germination of four storage temperatures (-20 °C, 0 °C and 10 °C plus a control at room temperature), every three months (from 0 to 12 months). To determine whether there were significant differences in germination among species, time and temperature of storage, a standardized data underwent an analysis of variance. When significant differences between the factors of variation is made a multiple comparison of means by Tukey test ( $P \leq 0.05$ ). Significant differences in the factors evaluated. There was no loss of viability of five of the six species assessed at 12 months of storage, therefore *Tillandsia* seeds can be stored, preferably at low temperatures without affecting its germination.

## CONTENIDO

	Pág.
I. RESUMEN .....	i
ABSTRACT .....	ii
INTRODUCCIÓN .....	2
ANTECEDENTES .....	5
Adaptaciones morfofisiológicas.....	5
Sistemas de polinización .....	7
Género <i>Tillandsia</i> .....	8
Germinación .....	9
Requerimientos para la germinación .....	10
Estudios realizados en viabilidad y almacenamiento .....	13
Región de estudio.....	14
Vegetación.....	14
Clima .....	15
Especies de bromelias utilizadas en Oaxaca .....	16
Material biológico.....	17
Literatura citada.....	19

### CAPITULO I

#### **Colecta y calidad de semillas de seis especies de *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) provenientes de un bosque templado, Sierra Norte de Oaxaca, México.**

Introducción .....	23
Materiales y Métodos.....	28

Resultados .....	35
Discusión.....	39
Conclusión .....	43
Literatura citada.....	44

## **CAPITULO II**

### **Efecto de la desecación a temperatura constante en la germinación de semillas de seis especies de *Tillandsia* L. (Bromeliaceae)**

Introducción .....	49
Materiales y Métodos.....	52
Resultados .....	56
Discusión.....	62
Conclusión .....	65
Literatura citada.....	66

## **CAPITULO III**

### **Efecto de las condiciones de almacenamiento en la capacidad germinativa de semillas de *Tillandsia* L. (Bromeliaceae)**

Introducción .....	69
Materiales y Métodos.....	73
Resultados .....	79
Discusión.....	89
Conclusión .....	93
Literatura citada.....	94
Conclusión general .....	97

## INTRODUCCIÓN

La familia Bromeliaceae Juss. contiene aproximadamente 3,086 especies distribuidas en 56 géneros (Luther, 2006). Su distribución es netamente Americana, exceptuando a *Pitcairnia feliciana* (Chevalier) Harms & Mildbraed originaria del oeste de África (Benzing, 1990). En México se reportan 18 géneros que agrupan 342 especies; siendo el género *Tillandsia* el más abundante con 192 especies, 133 de éstas endémicas del país. Oaxaca, de manera documental, ocupa el primer lugar en el país con el mayor número de especies de bromelias (172 agrupadas en 15 géneros) y es el estado con mayor número de endemismo (30 spp.) (Espejo et al., 2004; Espejo et al., 2007).

Ecológicamente las bromelias son de gran importancia porque proveen de un micro-ecosistema al capturar y almacenar agua y nutrimentos en sus brácteas foliares son el medio de reproducción y crecimiento de diversos macro y microorganismos (Benzing 1990; Franco 2008; García 2008; Romero-García 2010). Social y económicamente, son de gran importancia regional. En México, 112 especies se han reportado con algún tipo de uso (Mondragón et al., 2009). En Oaxaca se reconocen más de 31 especies comercializadas para adornar los nacimientos (Rees 1976, Rauh 1992, Mondragón, 2000), debido a ello numerosas especies de estas plantas han sido sometidas a fuertes presiones por extracción.

La sobre recolección, aunada a la desaparición de sus hábitats y el cambio de uso de suelo han puesto en riesgo a muchas especies, por ello en la Lista Roja Internacional de la IUCN (The World Conservation Union) están incluidas 151 especies de bromelias en diferente estatus de conservación (IUCN 2007 a). En la Norma Oficial Mexicana (NOM) 059-ECOL-2002 y

(NOM) 059-ECOL-2010, se reportan 21 especies de bromelias en diferente categoría de riesgo, se reportan 18 especies en la categoría de amenazadas, de las cuáles 15 especies pertenecen al género *Tillandsia*. En Oaxaca se distribuyen nueve de estas especies, una de las cuales es endémica del estado (*Tillandsia carlos-bankii*), y a tres especies más se les brinda protección especial, ya que se hallan en peligro de desaparecer a corto o mediano plazo si se sigue practicando su inadecuado aprovechamiento (DOF 2002, 2010; GAIA, 2007).

A pesar de los riesgos, no existen programas o estrategias de conservación de las especies endémicas o diversificadas de bromelias en México. Por ello es necesario desarrollar estrategias de conservación *ex situ*, como una medida que puede mitigar esta pérdida de diversidad genética. La importancia e implementación de estas estrategias se han incrementado en las últimas décadas, recientemente en la Convención de la Diversidad Biológica (CBD 2007) se le dio reconocimiento como una técnica eficaz para contrarrestar la pérdida de diversidad. Estas estrategias consisten en la recolección de muestras representativas de la variabilidad genética de una especie y su mantenimiento fuera de las condiciones naturales en las que la especie ha evolucionado. Incluyen la creación de colecciones vivas (jardines botánicos) o colecciones almacenadas a largo plazo (banco de semillas o esporas); el método más fácil, seguro y de baja relación costo-beneficio es el almacenamiento de semillas, el cual requiere asegurar la existencia de estas muestras a través del tiempo en condiciones viables y con sus características genéticas originales (Gold et al., 2004); no obstante para implementar esta estrategia de conservación se requiere conocer y documentar los requerimientos para la germinación, la tolerancia a la desecación y la sensibilidad a bajas temperaturas y los factores que inciden en la viabilidad bajo diferentes condiciones de almacenamiento.

A pesar de que en la última década se han tenido avances en diversas pruebas de la capacidad germinativa y los factores determinantes de la viabilidad en las semillas de la familia Bromeliaceae (Pineheiro y Borghetti, 2003; Vadillo et al., 2004; Palaci et al., 2004; Scatena et al., 2006; Tarré et al., 2007; Toro-Rosario, 2007; Tirado et al., 2007; Marcia-Vieira et al., 2007; Pereira et al., 2009; Pereira et al., 2010; y Mantovani e Iglesias, 2010), se han evaluado menos del 5% de las especies conocidas. Para las especies endémicas de México del género *Tillandsia*, no existen estudios que documenten este comportamiento.

Es por ello que en el presente trabajo se seleccionaron seis especies de aprecio ornamental y uso tradicional en Oaxaca, cuatro de las cuales son endémicas de México (*Tillandsia prodigiosa* Lem., Baker., *T. bourgaei* Baker., *T. makoyana* Baker y *T. violacea* Baker), una especie endémica de Oaxaca (*Tillandsia carlos-bankii* Matuda) y una especie de amplia distribución (*Tillandsia fasciculata* Sw.), con el objetivo principal de contribuir al conocimiento básico para el desarrollo de estrategias para la conservación *ex situ* de semillas de este género.

## ANTECEDENTES

### *Familia Bromeliaceae*

Las características generales que describe a Bromeliaceae son: hierbas o raramente arbustos, generalmente arrosetadas, a veces caulescentes, perennes, hermafroditas, raramente dioicas o funcionalmente poligamodioicas, epífitas, terrestres o rupícolas, de unos cuantos centímetros hasta de 10 metros de alto; tallos erectos a repentes o colgantes, generalmente cortos e inconspicuos, a veces grandes y notables, por lo general poco ramificados; pocas raíces fibrosas. Hojas polísticas, alternas, simples, generalmente perennes, el pecíolo ausente, raramente sustituido por un pseudopecíolo, envainantes en la base, las láminas enteras o a veces con los márgenes espinosos aserrados, cintiformes, largamente triangulares, lineares o filiformes, paralelinervias. Inflorescencias terminales o laterales, compuestas o simples, racemosas, espigadas, capituliformes, paniculadas, tirsoideas o raramente reducidas a una sola flor, indeterminadas, pedunculadas o sésiles, bracteadas; flores perfectas, a veces imperfectas o funcionalmente imperfectas; 3 sépalos, libres o a veces los dos dorsales connados, imbricados, simétricos a veces asimétricos, generalmente verdes, raramente coloridos; 3 pétalos, libres o connados en la base, formando una corola tubular o raramente extendidos y separados, imbricados, simétricos, coloridos, a menudo con un par de apéndices en la base en la parte interna; Fruto una cápsula septicida o muy raramente loculicida o bien una baya, trilocular, dehiscente o indehiscente, glabro o más raramente lepidoto; semillas numerosas, la testa lisa o carnosa, a veces apendiculada o alada, pequeñas, con un endospermo bien desarrollado y con un embrión cilíndrico, basal y ya sea periférico o casi axilar con relación al endospermo (Smith y Downs 1974; Espejo *et al.*, 2005)

Su rango de distribución, abarca variadas condiciones ambientales (con diferencias contrastantes en su tolerancia a déficit hídrico y regímenes de luz) (Medina, 1990) y de vegetación: bosques tropicales lluviosos, bosques tropicales estacionales, bosques de neblina, bosques templados, selvas bajas, dunas costeras, así como plantaciones. El tope de distribución altitudinal son los 12,000 msnm (Benzing, 1994).

#### *Adaptaciones morfofisiológicas*

Entre las especies de bromelias de hábito epifito se pueden diferenciar dos grupos con diferentes estrategias de captación de agua y nutrientes: tipo tanque y atmosféricas (Pittendrigh 1948). Aunque existe toda una gama de formas intermedias entre estos dos tipos de estrategias. Las especies tipo tanque, presentan la disposición de las hojas ensanchadas de la base, traslapándose unas con otras de tal manera que forman una roseta, lo que facilita la acumulación de agua y nutrimentos, siendo su fuente principal de alimentación, los cuales absorbe por los tricomas foliares presentes en la base de las hojas (Benzing, 2000). El tanque ayuda a conservar el agua, humedad y nutrientes necesarios por un periodo extenso de sequía (Zotz y Thomas, 1999). Las especies con este tipo de estrategia crecen generalmente en las selvas más húmedas o en las zonas internas del dosel donde la humedad relativa es mayor y la intensidad lumínica menor (Benzing, 2000). Contrario a ello, las especies tipo atmosférico presentan hojas más chicas y delgadas con las cuales no se puede formar un tanque. Este tipo de bromelias absorbe agua y sales minerales de la lluvia, del rocío y de la humedad del ambiente, los cuales son su principal fuente de nutrición. La absorción de los nutrimentos y agua se lleva a cabo por medio de los tricomas foliares que cubren todas las hojas. Esta estrategia se presenta mayormente en especies que crecen en zonas más secas o en la parte más expuesta del dosel (Benzing, 2000). Debido a estas características morfológicas, las especies

tipo tanque en su fase reproductiva producen una mayor cantidad de semillas debido a la mayor disponibilidad de nutrimentos.

### *Sistemas de polinización*

La biología de la polinización ha sido poco estudiada en bromelias (Esteba, 2004), se ha reportado a las aves, especialmente los colibríes como los principales visitantes de las bromelias, el síndrome de polinización de ornitofilia lo presentan las plantas que poseen corolas tubulares largas, secreción de néctar, estambres y estigmas extendidos o no fuera de la corola, flores sin fragancia perceptible, con coloraciones rojas, amarillas, violetas (Smith y Downs, 1974, Martinelli, 1994) y en general, las bromelias presentan una inflorescencia terminal con coloraciones llamativas en las brácteas y en el escapo, las flores son frecuentemente de colores brillantes (rojo, morado, azul, amarillo, naranja) (Martinelli 1994, Benzing 2000, Sajo et al., 2004).

Sin embargo, aunque la polinización por colibríes es el mecanismo de polinización mas común en las tres subfamilias, las polillas también son polinizadores frecuentes de algunas especies de bromelias particularmente las que poseen flores color pastel y de tono verdoso y su fragancia se intensifica al atardecer. La polinización por murciélagos es menos común, se lleva a cabo en especies que tienen floración nocturna, otro mecanismo de polinización también es llevado a cabo por algunos insectos (Martinelli 1994, Kessler y) se presentan diversos mecanismos de cruzamiento en Bromeliaceae, desde autofértiles así como especies que se autopolinizan, además se ha registrado autocruzamiento (McWilliams, 1974) citado por (González, 2004). Además de especies, autoincompatibles con polinización cruzada.

Las bromelias epifitas presentan una mezcla de estrategias reproductivas, lo que sugiere que en el ambiente epífita se favorece el desarrollo de estrategias mixtas que por un lado aseguren la producción de semillas para la constante colonización de nuevos forofitos y por otro promuevan el intercambio genético con el fin de generar una mayor diversidad genética (Mondragón, 2000).

### *Género Tillandsia*

En este género se encuentran especies tipo tanque y atmosféricas. Sus hojas son enteras, sus inflorescencias son usualmente terminales, aunque pueden ser laterales, de apariencia vistosa, pueden ser simples o compuestos, de diferentes colores, en general los estambres y el estigma son exertos, presentan ovario súpero y su fruto es una cápsula septicida dehiscente, que contiene las semillas (Martinelli 1994, González 2004, Ramírez *et al.*, 2004, Scatena *et al.*, 2006). (Smith y Downs, 1974).

Las semillas de *Tillandsia* son uniformes, dentro de las especies, en cuanto a peso, forma, morfología, tipo y cantidad de reservas, mecanismo de dispersión y capacidad germinativa. Las semillas están insertadas en cápsulas septicidas dehiscentes, están provistas de apéndice plumoso, que está formado por numerosos filamentos que crecen del micrópilo, poseen, endospermo, un solo cotiledón, vestigios de hojas primarias y secundarias, ápice del brote e hipocotilo, el embrión es pequeño, cilíndrico, ocupa solo un tercio del volumen total y siempre ocupa la posición opuesta al punto de inserción de la pared del ovario. (Esteba, 2002; Scatena *et al.*, 2006).

Las especies de *Tillandsia* requieren condiciones de humedad para germinar y sobrevivir en la etapa de plántula, debido a ello la mayoría de estas especies libera sus semillas un poco antes de la época de lluvias, asegurando la disponibilidad de humedad para las primeras fases de crecimiento ( Esteba, 2004)

### *Germinación*

El proceso de germinación inicia cuando la semilla, en un sitio y/o medio húmedo, absorbe humedad por imbibición, comienza la elongación del micropilo (Esteba, 2004). Incluye numerosos eventos como son hidratación de proteínas, cambios en la estructura subcelular, respiración, síntesis macromolecular y la elongación celular (Bewley, 1994). Durante este proceso de hinchazón el agua simultáneamente entra en el protoplasto del embrión y células del endospermo por ósmosis. Cuando estas células son hidratadas comienzan a respirar a altas tasas, digieren nutrimentos de reserva y usan los bioproductos de la síntesis de materiales que necesitan para el crecimiento y la emergencia de la plántula (Hartmann y Kester, 2001).

Las semillas de *Tillandsia* después de 5 a 6 días usualmente muestran un color claro (micrópilo) que emerge de donde se localiza el embrión. Dentro de otros 7-10 días, este aumento tiene cambios verdes y consiste de una primera hoja en miniatura llamada hipocotilo. Cuando finalmente surge la primera raíz esta puede emerger de la base del hipocotilo, que puede aparecer de 4 a 6 meses después de la germinación, mientras tanto queda asegurada en el hospedero por medio del apéndice plumoso.

Las especies de *Tillandsia* requieren condiciones de humedad para germinar y sobrevivir en la etapa de plántula, debido a ello la mayoría de estas especies libera sus semillas un poco antes de

la época de lluvias, asegurando la disponibilidad de humedad para las primeras fases de crecimiento (Esteba, 2004).

Numerosos factores parecen estar involucrados en la germinación y el establecimiento de las semillas. Entre estos tenemos factores relacionados con las características del forofito como son el tipo y estabilidad de la corteza, el ángulo de inclinación de las ramas, la posición dentro de las ramas, la cantidad de líquenes y musgos adheridos a la corteza y la producción de sustancias alelopáticas. Así como características relacionadas con el microambiente al cual arriban las semillas, como son disponibilidad de luz, agua y nutrimentos (Pittendrigh 1948; Johansson 1974, Benzing 1978, Yeaton & Gladstone 1982, Dejean et al. 1995, Castro et al. 1999).

#### *Requerimientos para la germinación*

Dormancia. Se refiere al estado en el cual las semillas viables no germinan aun en condiciones normalmente favorables para la germinación. La dormancia se puede presentar de dos formas en las semillas, a nivel de la testa o en el embrión, cuando se presenta dormancia de la testa, la semilla es incapaz de absorber agua ya sea por barreras físicas, químicas o mecánicas que impiden la realización del proceso.

Cuando se presenta dormancia del embrión, existe presencia de sustancias inhibidoras en el embrión o en los tejidos circundantes que impiden la germinación, también la dormancia puede ser causada por una combinación de semillas impermeables y embriones

fisiológicamente dormantes y para que ocurra la germinación se deben de interrumpir ambos tipos de dormancia.

Sin embargo las semillas de las bromelias epifitas son consideradas semillas quiescentes, es decir semillas que no pasan por un periodo de dormancia, pueden germinar inmediatamente después de ser dispersadas cuando se encuentran en un medio apropiado de humedad y temperatura (Ellis et al., 1985; Benzing, 2000).

### *Luz*

Ecológicamente la luz es un factor de gran importancia; controla la germinación bajo el dosel de las ramas de los árboles, y al interactuar con la temperatura participa en el control estacional del rompimiento de la latencia, es un factor en el cual la edad de la semilla también es determinante (Moreno, 1996).

Las semillas sensibles a la luz generalmente son pequeñas, el mecanismo de la sensibilidad de las semillas a la luz implica a un pigmento fotoquímicamente reactivo (fitocromo), presente en las plantas. En las semillas expuestas a la luz roja hace que el fitocromo de la semilla cambie a fitocromo fr (oPfr) estimulando a la germinación, la exposición a la luz infrarroja ocasiona un cambio a la forma alterna (Pr) que inhibe la germinación y en la oscuridad ocurre un cambio lento (Hartmann y Kester, 2001). Sin embargo aunque la luz promueve la germinación, no es un requerimiento obligatorio para este proceso (Karlsson, 2007).

Las semillas de un gran número de especies de bromeliáceas requieren de luz para su germinación. Independientemente de las grandes diferencias en aparentes requerimientos de luz, la fotorreacción que controla la germinación es probablemente el mismo en todos los

requerimientos luz de las semillas y es medido por el pigmento de fitocromo (Smith y Downs, 1974). Mercier y Guerrero (1990) mencionan que las radiaciones cíclicas o luz continua promueven la germinación en muchas de las bromelias, afectando la velocidad de germinación.

### *Temperatura y humedad*

La germinación es siempre dependiente de la temperatura. Las semillas de muchas especies germinan bajo un amplio rango de temperatura, pero la respuesta es más pronunciada dentro de una pequeña fracción del espectro (Benzing, 1990). La temperatura afecta tanto el porcentaje como la tasa de germinación, la tasa de germinación por lo general se reduce a temperaturas bajas pero aumenta paralelamente con la elevación de la temperatura (Koller, 1972).

La disponibilidad de humedad es considerada el factor más importante para la germinación de semillas no dormantes, es el caso de la mayoría de las bromelias epifitas (Benzing, 2000, Cascante-Marín et al., 2006). La cantidad de agua y la velocidad de absorción de la semilla están determinadas por procesos físicos de difusión y por las propiedades de los coloides. El agua tiene que atravesar una membrana permeable, la cual presenta una alta concentración de sustancias en uno de los lados. Las moléculas del solvente penetran a la sustancia que se está hinchando, ocupando los espacios intermicerales del coloide. Esto produce una presión de imbibición, esta presión puede llevar al rompimiento de la testa durante la germinación. Son dos los factores que se deben tomar en cuenta para analizar el proceso de absorción de agua por parte de la semilla: 1) la relación de la semilla con el agua y 2) la relación de la semilla y el sustrato.

La superficie de la semilla que está en contacto con el sustrato también afecta la capacidad de absorción de esta. Mientras mayor es el contacto mayor cantidad de agua puede ser absorbida (Moreno, 1996). Las semillas de Bromelias epifitas son pequeñas tiene mayor superficie volumen- radio y consecuentemente mayor permeabilidad por lo tanto pueden completar rápidamente la imbibición con poca cantidad de agua (Madison, 1977).

*Estudios realizados en tolerancia a la desecación de semillas de bromelias*

En la base de datos de Royal Botanical Gardens Kew, se encuentra la información que documenta el comportamiento de almacenamiento (tolerancia a la desecación) de especies de Bromeliaceae, se reportan como ortodoxas: *Aechmea coelestis* (K.Koch) E.Morren, *Aechmea fasciata* (Lindl.) Baker, *Aechmea miniata* var. *discolor* (Beer) Beer ex Baker, *Aechmea nudicaulis* var. *cuspidata* Baker, *Aechmea nudicaulis* (L.) Griseb., *Alcantarea regina* (Vell.) Harms, *Ananas comosus* (L.) Merr., *Billbergia elegans* M. Martens ex Schult. & Schult.f. *Billbergia pyramidalis* (Sims) Lindl. *Canistrum lindenii* Mez *Edmundoa lindenii* var. *lindenii* *Encholirium spectabile* M.Martens ex Schult. & Schult.f. *Guzmania monostachia* (L.) Rusby ex Mez *Hechtia glomerata* Zucc. *Hechtia pedicellata* S.Watson *Hechtia podantha* Mez *Neoregelia carolinae* (Beer) L.B.Sm. *Neoregelia concentrica* (Vell.) L.B.Sm. *Nidularium fulgens* Lem. *Ochagavia carnea* (Beer) L.B.Sm. & Looser, *Ochagavia litoralis* (Phil.) Zizka *Pitcairnia flammea* Lindl., *Puya berteroniana* Mez, *Puya boliviensis* Baker, *Puya coerulea* Lindl., *Puya coerulea* Lindl., var. *coerulea*, *Puya raimondii* Harms, *Puya* sp., *Puya tovariana* L.B.Sm. *Puya venusta* (Baker) Phil., *Quesnelia lateralis* Wawra, *Vriesea carinata* Wawra, *Vriesea haematina* L.B.Sm., *Vriesea regina* (Vell.) Beer, *Vriesea scalaris* E.Morren, *Wittrockia superba* Lindm. Sin embargo se carece de información para el género *Tillandsia*.

Para semillas de bromelias, se ha generado poca información sobre los factores determinantes en la viabilidad de las semillas en condiciones de almacenamiento: Hartmann (1981) evaluó la viabilidad de semillas de *P. raimondii*, reportó 90% de germinación, manteniendo su poder germinativo por seis meses, mientras que Rivera( 1985) reportó 99% de germinación para *P. raimondii* sin pérdida de viabilidad en 1 año de almacenamiento, Tarré et al.,(2007) estudiaron el almacenamiento a bajas temperaturas y criopreservación de semillas de seis especies de *Encholirium* y dos especies de *Dyckia*, reportó la preservación de viabilidad durante un año de almacenamiento a 4 y -20°C. Pereira *et al.*, (2010) reportaron el mayor porcentaje de germinación (91%) de semillas de *Nidularium innocentii* almacenadas a 4°C, en un periodo de tres meses de almacenamiento.

#### *Región de estudio*

Municipio de Santa Catarina Ixtepeji, se localiza en la región Sierra Norte del estado de Oaxaca (Figura 1), aproximadamente entre los 96° 36' Y 96° 39' LO y entre los 17° 09' y 17° 11' LN. La altitud varía desde 1500 hasta 3200 msnm (INEGI, 1998, Victoria-Villa, 2009).

#### *Vegetación*

La comunidad vegetal esta compuesta principalmente de bosques de pino, presentes en zonas con alturas de aproximadamente 3100 m, en las partes medias (2200 m y 2900 m) predominan encinares y bosque de pino-encino, mientras que en las zonas mas bajas la vegetación consiste de encinar arbustivo (Zacarías-Eslava, 2009). Predominantemente se encuentran especies de: *Pinus oaxacana* Mirov., *Pinus teocote* Schiede ex Schltdl et Cham., *Pinus leiophyla* Schiede ex Schltdl. et Cham., *Pinus oocarpa* Schiede ex Schltdl., *Pinus ayacahuite* c. Ehrenb. ex Schltdl., *Quercus acuatifolia* Neé, *Quercus glabrescens* Benth. y *Quercus crassifolia* Humb & Bonpl., *Quercus laurina*

Humb & Bonpl., *Abies guatemalensis* Rehder, *Abies oaxacana* Mart y *Cupressus lindleyi* Klotzsch ex Endl. ( INEGI 1985; Lorente y García-Mendoza 1989; Acevedo 1998; Flores y Manzanero 1999; Castaños 2000).

La flora epífita está compuesta por miembros de: Crassulaceae, Bromeliaceae, Orquidaceae, Piperaceae y Polipodiaceae (Victoria-Villa 2009). Mondragón y Villa-Guzmán (2008) reportan 19 especies de la familia Bromeliaceae, evaluaciones posteriores permiten documentar 22 especies de bromelias epífitas presentes en Santa Carina Ixtepeji: *Catopsis berteroniana* (Schult. & Schult. f.) Mez., *Tillandsia achyrostachys* E. Morren ex Baker, *Tillandsia bourgaei* Baker, *Tillandsia calothyrsus* Mez., *Tillandsia carlos-bankii* Matuda, *Tillandsia fasciculata* Sw. Wn, *Tillandsia gimnobotrya*, *Tillandsia juncea* Ruiz & Pavon, *Tillandsia macrochlamys* Baker, Espejo *Tillandsia magdougallii* L.B Smith, *Tillandsia magnusiana* Wittmack., *Tillandsia makoyana* Baker, *Tillandsia oaxacana* L.B Smith, *Tillandsia prodigiosa* (Lem.) Baker, *Tillandsia quaquaflorescens* Matuda, *Tillandsia recurvata* Steudel, *Tillandsia shiedeana*, Steudel, *Tillandsia usneoides* L., *Tillandsia utriculata* L, *Tillandsia violacea* Baker, *Viridantha atroviridipetala* (Matuda) Espejo, *Viridantha plumosa* (Baker).

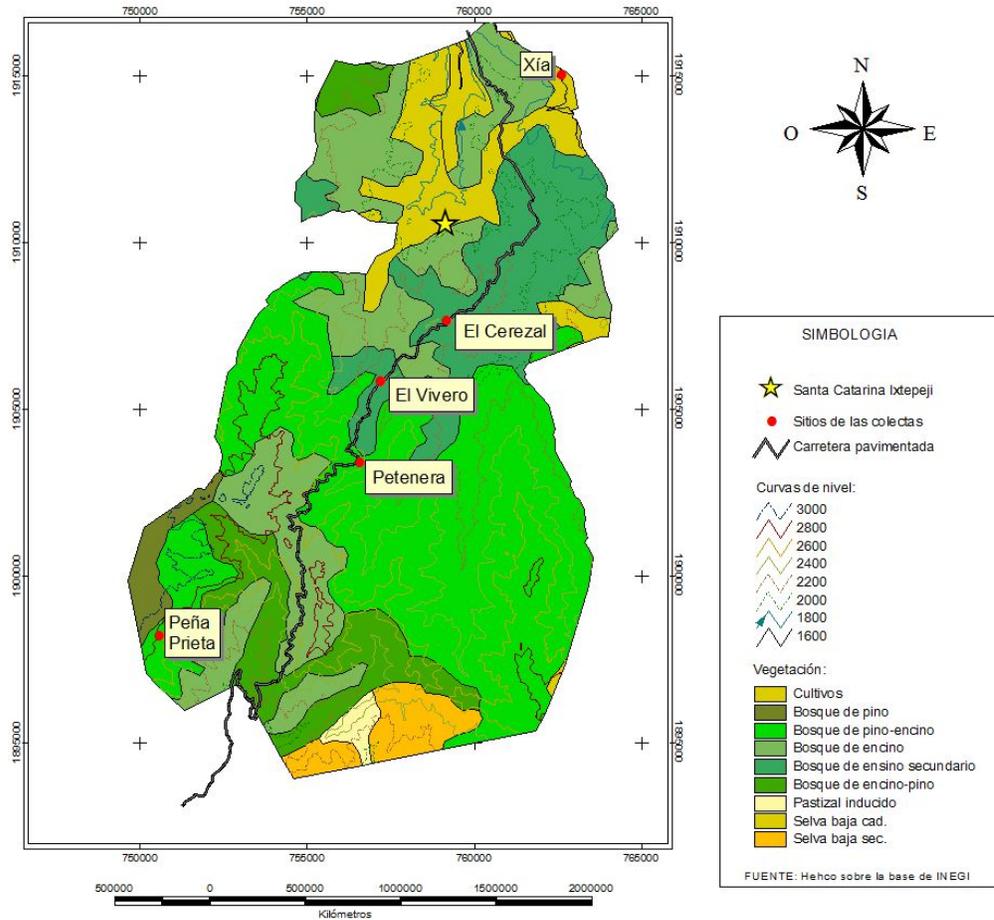


Figura 1. Sitio de colecta de semillas de seis especies de *Tillandsia* spp.

### *Clima*

El clima, dependiendo de la altitud, varía de templado a frío subhúmedo con dos épocas anuales bien definidas; época húmeda de junio a octubre y una época seca de febrero a mayo. La temperatura media anual se encuentra comprendida entre las isothermas de 11 a 16 °C y la precipitación media anual registrada va de 600 a 1300 msnm (INEGI, 1998).

### *Especies de bromelias epifitas utilizadas en Oaxaca*

Las especies, así como los usos que se les ha dado en la región son variados, Granados (2005), menciona que *T. prodigiosa*, *T. bourgaei*, se utilizan las vainas foliares para consumo humano y las hojas enteras para forraje, *T. prodigiosa* es especialmente para adornar nacimientos; *T. violacea*

principalmente su uso es ornamental en la Sierra Juárez, pues es apreciada por su gran belleza; *T. fasciculata*, *T. makoyana*, *T. achyrostachys*, *T. bourgaei*, *T. juncea*, *T. magdougallii*, *T. violacea* son frecuentemente cultivadas por coleccionistas. Mondragón y Villa-Guzmán (2008) reportan 14 especies con uso principalmente ornamental, comercial y forraje: *C. berteroniana*, *T. achyrostachys*, *T. bourgaei*, *T. calothyrsus*, *T. carlos-bankii*, *T. gymnobotrya*, *T. magdougallii*, *T. macroclamys*, *T. magnusiana*, *T. oaxacana*, *T. prodigiosa*, *T. quaquaflorescens*, *T. usneoides*, *Viridantha plumosa*, además estimaron que el volumen total de recolección de estas especies cada año para su venta es de 15180 ejemplares.

#### *Material biológico*

Para realizar la presente investigación se seleccionaron especies reportadas con algún tipo de uso, presentes en el área comunal de Santa Catarina Ixtepeji, de ellas se seleccionaron principalmente especies endémicas y debido a la cantidad de semillas que se requirieron para los diferentes evaluaciones, se seleccionaron especies tipo tanque (mayor producción de semillas vs. tipo atmosférico): *Tillandsia prodigiosa*, *Tillandsia bourgaei*, *Tillandsia makoyana*, *Tillandsia violacea*, *Tillandsia carlos-bankii* y *Tillandsia fasciculata* (Tabla 1).

**Tabla 1.** Descripción general de distribución y distinción de las seis especies de *Tillandsia* objeto de estudio.

Descriptor general	Especie de <i>Tillandsia</i> *					
	<i>carlos-bankii</i>	<i>makoyana</i>	<i>prodigiosa</i>	<i>bourgaei</i>	<i>fasciculata</i>	<i>violacea</i>
Hábitat o vegetación asociada	Pino-encino (1900-2900 msnm)	Pino-encino (50-2320 msnm)	Pino-encino (1800-2800 msnm)	Encino-pino (600-3100 msnm)	Encino y selvas bajas (1500-2000 msnm)	encino- pino, mesófilo de montaña, pino-encino (600-3100 msnm)
Distribución	Endémica de Oaxaca	Endémica de México: noreste a sureste	Endémica de México: sureste	Endémica de México	Noreste, Centro y sureste de México	Centro y sureste de México
Características de la inflorescencia	Cilíndrica de 57-70 cm de largo, corola verde	inflorescencia erecta paniculada de hasta 1 m, flores violetas	Tipo péndula, bipinnada, subcilíndrica de 30-60 cm de longitud, corola verde cremoso	Erecta, cilíndrica de 26 a 30 cm, corola verde o amarillo verduzco	Usualmente paniculada, 25 a 60 cm de largo, corola violeta, raramente blancos	Inflorescencia colgante 15 a 35 cm de largo, corola tubular violeta
Flores por eje floral (aprox.)	70	25	30	30	8	10
Semillas por cápsula (aprox.)	200-250	80-100	180-200	200-250	80-120	200-250
Tipo de semilla	Apéndices plumosos	Apéndices plumoso	Apéndices plumosos	Apéndices plumosos	Apéndices plumosos	Apéndices plumosos
Dispersión de las semillas	Anemócora	Anemócora	Anemócora	Anemócora	Anemócora	Anemócora
Época de dispersión local de semillas	Noviembre-abril	Noviembre-abril	Noviembre-marzo	Marzo-mayo	Mayo-julio	Marzo-junio
Localización en Sta. Catarina Ixtepeji	El punto, Petenera, El Cerezo, Reinoso, Santa Catarina, Tierra Colorada y El Cerezal	Xhia, Puente de Fierro, Peñasquera, Banco de Cantera	El punto, Petenera, El Cerezo, Reinoso, Santa Catarina, Tierra Colorada y El Cerezal	El Punto, Petenera, El Cerezal, Reinoso y Santa Catarina	Xhia y Puente de Fierro	Petenera y Peña Prieta

\*Fuentes: Smith y Downs (1874), Espejo-Serna (2004) y Espejo-Serna *et al.* (2004), Mondragón *et al.* (2008) y datos generados en el laboratorio de epífitas del CIIDIR Oaxaca.

## Literatura citada

- Benzing, D.H. 1990. Vascular Epiphytes. General biology and related biota Cambridge: Cambridge. University Press. 354 pp.
- Benzing, D.H. 2000. Bromeliaceae Profiles of an Adaptive Radiation. Cambridge University Press. Cambridge. 495-593 pp.
- Espejo, S. A y López-Ferrari A. R. 1998. Acta de las Bromeliáceas mexicanas. Herbario Metropolitano, Departamento de Biología. México, D. F. 86 pp.
- Espejo, S. A. y López-Ferrari A. R. 2004. Conocimiento Florístico y fitogeográfico actual de las Bromeliáceas mexicanas. Herbario Metropolitano, Departamento de Biología. México, D. F. 86 pp.
- Espejo, S. A., López-Ferrari A. R, Martínez-Correa N, Pulido-Esparza V. 2007. Bromelias Flora de Oaxaca, México: Richness and Distribution. Acta Botánica Mexicana 81:71-14
- Esteba, F. O. 2002. Bromelias para aficionados. Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales. Comité de Bromeliología. pp. 230.
- Franco-Méndez A. D. 2008. Diversidad de artrópodos presentes en *Tillandsia carlos-hankii* y *T. oxacana*. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Oaxaca. Instituto Politécnico Nacional. México. 70 pp.
- García-Jarquín M. I. 2008. Macroartropodos asociados a la bromelia *Tillandsia prodigiosa* (Lem) Baker en dos localidades de Santa Catarina Ixtepeji, Oaxaca Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Oaxaca. Instituto Politécnico Nacional. México. pp. 60.
- Gold, K.; P. León-Lobos. y M. Way 2004. Manual de recolección de semillas de plantas silvestres para conservación a largo plazo y restauración ecológica. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Intihuasi, La Serena, Chile. Boletín INIA N° 110. 62 pp.
- González, C. J. U 2004. Biología de la Reproducción y variación izoenzimática en *Tillandsia elongata* Kunth var. *Subimbricata* (Baker) y *Tillandsia brachycaulos* Schldtl.(Bromeliaceae), en el parque Nacional de Dzibilchaltún, Yuc. M en C thesis. Centro de Investigación científica de Yucatán, México.90 pp.

- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI) 1985. Carta del uso de suelo y vegetación Oaxaca E 14-9 escala 1: 250 000.
- Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI) 1998. Carta topográfica Oaxaca E 14-9 escala 1: 250 000
- Kessler, M. y T. Kromer 2000. Patterns and Ecological correlaterns of Pollination Modes among Bromeliads Communities of Andean Forest in Bolivia. *Plant Biol.* 2:659-669.
- Luther, H. E. 2006. An alphabetical list of bromeliad binomials. Bromeliads society International. Sarasota. 119 pp.
- Martinelli, G. 1994. Reproductive biology of Bromeliaceae in the Atlantic Rainforest of Southeastern Brazil. Tesis doctoral, School of Biological and Medical Sciences University of St. Andrews.13-28.
- Mondragón D., Durán R., Ramírez I., Olmsted I. 1999. Population Dynamics of *Tillandsia brachycaulos* Schtdl. (Bromeliaceae) en Dzibilchaltun National Park, Yucatán. *Selbyana* 20(2): 250-255.
- Mondragón D. 2000. Dinámica poblacional de *Tillandsia brachycaulos* Schltdl. En el parque nacional de Dzibilchaltún, Yuc. PhD thesis. Centro de Investigación científica de Yucatán, México. 91 pp
- Mondragón, D. M., Villa –Guzmán D. M., Escobedo–Sarti G. J. y A. D. Franco–Méndez. 2006. La riqueza de bromelias epífitas a lo largo de un gradiente altitudinal en Santa Catarina Ixtepeji, Oaxaca, México. *Naturaleza y Desarrollo – CIIDIR IPN* 4(2):13 – 16.
- Mondragón, D. y D. Villa 2008. Estudio etnobotánico de las bromelias epífitas en la comunidad de Sta. Catarina Ixtepeji. *Polibotánica* 26: 175-191.
- Mantovani, A. and R.R. Iglesias. 2010. The effect of water stress on seed germination of threeterrestrial bromeliads from restinga. *Revista Brasil. Bot.* 33: 201-205.
- Mascia-Vieira, D.C., F. Socolowski e M. Takaki. 2007. Germinacao de sementes de *Dyckia tuberosa* (Vell.) Beer (Bromeliaceae) sob diferentes temperaturas em luz e escuro. *Revista Brasil. Bot.* 30: 183-188.
- Palaci, C.A., G.K. Brown and D.E. Tuthill. 2004. The seed of *Catopsis* (Bromeliaceae: Tillandsioideae). *Systematic Botany* 29: 518-527.
- Pereira, A.R., A.C.S. Andrade, T.S. Pereira, R.C. Forzza and A.S. Rodrigues. 2010. Morphology aspects of seed, germination and storage of *Pitcairnia albiflos* (Bromeliaceae). *Seed science and Technology* 38: 79-87.

- Pereira, A.R., A.C. Silva-de-Andrade, T. Sampaio-Pereira, R. Campotrini-Forzza e A. Saade-Rodrigues. 2009. Comportamento germinativo de espécies epífitas e rupícolas de Bromeliaceae do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. *Ver. Brasil. Bot.* 32:827-838.
- Pereira, C., F.L. Cuquel e M. Panobianco. 2010. Germinação e armazenamento de sementes de *Nidularium innocentii* (Lem.). *Revista Brasileira de Sementes* 32: 36-41.
- Pinheiro, F. and F. Borghetti. 2003. Light and temperature requirements for germination of seeds of *Aechmea nudicaulis* (L.) Griesbach and *Streptocalyx floribundis* (Martius ex Schultes F.) Mez (Bromeliaceae). *Acta Bot. Brasil.* 17: 27-35.
- Romero García J.M. 2008. Meiofauna asociada al Dosel de un bosque de pino-encino: un habitat atípico. Tesis de Maestría. CIIDIR Oaxaca. IPN. México. pp. 58.
- Rauh, W. 1992. Are Tillandsias endangered plants?. *Selbyana* 13: 138-139.
- Rees, J. 1976. The Oaxaca Christmas plant market. *Journal of the Bromeliad Society Bulletin* 6: 223-232.
- Sajo, M. G.; Prychid, C.J y Rudall, P.J. 2004. Structure and development of the ovule in Bromeliaceae. *Kew Bulletin*, 59, 261-267.
- Scatena, V.L., S. Segecin and A.I. Coan. 2006. Seed morphology and post-seminal development of *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) from the “Campus Gerais” Paraná, Southern Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 49: 945-951.
- Smith, L. B y R. J. Downs. 1974. Pitcarnioideae (Bromeliaceae) In: *Flora Neotropica* 14(2): 659-1492.
- Smith, L. B y R. J. Downs. 1977. Tillandsioideae (Bromeliaceae) In: *Flora Neotropica* 14(2): 659-1492.
- Tarré, E., B.B. Mendes-Pires, A.P. Macano-Guimaraes, L. Alves-Carneiro, R. Campotrini-Forzza and E. Mansur. 2007. Germinability after desiccation, storage and cryopreservation of seeds from endemic *Encholirium* Mart. Ex Schult. & Schult. F. and *Dyckia* Schult. & Schult. F. species (Bromeliaceae). *Acta Bot. Brasil.* 21: 777-783.
- Tirado M., C.J., E. Olivo, E. Fernández, Y. Leon V., J.C. Gaviria y C. Garbiso. 2007. Viabilidad y germinación en semillas de bromelias. Pp: 208-210, In: *Memorias del XVII Congreso Venezolano de Botánica*, 20 -25 mayo de 2007, Maracaibo, Estado del Zulia, Venezuela. Maracaibo, Venezuela.

- Toro-Rosario, M., S. Roque, E. Cuevas and M.F. Barberena. 2007. Bromeliad germination: Is Light an important factor in germination. In: Proceeding of ESA/SER Joint Meeting, 5-10 August 2010, San Jose California. San Jose, CA. USA.
- Vadillo G, M Suni y A. Cano. 2004. Viabilidad de *Puya raimondii* Harms (Bromeliaceae). *Rev. Peru. Biol.* 11: 71-78.
- Victoria-Villa N. V. 2009. Distribución de epífitas vasculares a lo largo de un gradiente altitudinal en Santa Catarina Ixtepeji, Oaxaca. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Oaxaca. Instituto Politécnico Nacional. México. 68 pp.

## CAPITULO I

### COLECTA Y CALIDAD DE SEMILLAS DE SEIS ESPECIES DE *Tillandsia* L. (BROMELIACEAE) PROVENIENTES DE UN BOSQUE TEMPLADO, SIERRA NORTE DE OAXACA, MÉXICO

Diana Sosa-Luría<sup>1</sup>, Porfirio Ramírez Vallejo<sup>2</sup>, Julio Arturo Estrada Gómez<sup>2</sup>, José Luis  
Chavez-Servia<sup>1</sup>, Demetria Mondragón Chaparro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional-Instituto Politécnico Nacional  
Unidad Oaxaca. Hornos # 1003. Santa Cruz Xoxocotlán. 71230. Oaxaca. México. <sup>2</sup> Instituto de Recursos  
Genéticos y Productividad. Colegio de Postgraduados.

#### Introducción

Las semillas son estructuras compactas e independientes dentro del ciclo de vida de las plantas que son idóneas para coleccionar, almacenar y representar la diversidad vegetal (Gold *et al.*, 2004). Las semillas son las unidades físicas de la herencia portadoras de la variabilidad genética de las poblaciones que transfieren las características adaptativas y evolutivas que determinan la sobrevivencia de las plantas a las diferentes condiciones ambientales de generación en generación (Chin, 1994).

México es uno de los países con mayor diversidad vegetal del planeta. En nuestro país se encuentra alrededor de 12% de la diversidad total mundial, la que se estima en más de 22 000 especies de plantas (Villaseñor, 2004). Una parte importante de esta biodiversidad la constituye la familia *Bromeliaceae*, de la que en el país se encuentran 18 géneros que agrupan 342 especies. El género *Tillandsia* L. es el más abundante ya que cuenta con 192 especies, de las cuales 133 son endémicas. El rango de distribución del género abarca diversas condiciones ambientales y de vegetación, como bosques tropicales lluviosos, bosques tropicales estacionales, bosques de neblina, bosques templados, selvas bajas, dunas costeras, y plantaciones (Espejo *et al.*, 2007).

México ha perdido más de la tercera parte de sus bosques y selvas (Ricker *et al.*, 2007) con una gran cantidad de poblaciones de plantas silvestres. En particular, 21 especies de bromelias que se encuentran en la lista de la Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2002 y NOM-059-ECOL-2010, han sido gravemente afectadas. La pérdida de especies requiere acciones de conservación que garanticen la sobrevivencia de las especies. No obstante, las acciones de conservación *in situ* en áreas protegidas, no permite proteger a todas las especies amenazadas o en peligro de extinción, ya que abarcan sólo un fragmento de los hábitats de estas especies (Iriundo, 2001). En este contexto la preservación de semillas en bancos de germoplasma (conservación *ex situ*) es una medida complementaria para conservar por largos periodos de tiempo y en espacios reducidos gran cantidad de especies, asegurando el material genético en caso de destrucción de hábitat, desastres o catástrofes (Damania, 1996; Gold *et al.*, 2004). El primer paso hacia la conservación *ex situ* de la diversidad vegetal es la colecta adecuada de semillas.

En teoría la colecta de semillas es un proceso simple, sin embargo, en la práctica no lo es, ya que para una colecta sea exitosa debe cumplir al menos tres lineamientos esenciales: 1) semillas sanas de alta viabilidad (calidad), ya que a través del almacenamiento se puede preservar la calidad pero no mejorarla; 2) cantidad de semillas apropiada en función de los objetivos, conservación, investigación y restauración ecológica u otros; y 3) representatividad genética de la especie y población, para la mayoría de las plantas silvestres una sola población puede contener gran parte de la diversidad genética de una especie (Way 2000; Gold *et al.*, 2004; Schmidt, 2007). En general se recomienda obtener una muestra representativa del 95% de los alelos presentes en la población presentes en una frecuencia superior a 5%. En ciertos casos, esta condición se cumple al coleccionar semillas de aproximadamente 50 individuos, aunque deben considerarse las particularidades de cada especie (Way, 2004). De tal manera que las muestras de una colecta podrían ser usadas directamente para restablecer la población original en caso de que ésta se extinga, ser almacenadas en bancos de semillas como una forma de conservación *ex situ* y ser utilizadas en un amplio rango de investigación biológica (Gold *et al.*, 2004).

Por lo anterior, el esfuerzo de la colecta debe estar enfocado en asegurar que cada semilla colectada alcanzó su madurez, usando como indicadores el tamaño, el color y la dureza, entre otros atributos (Hay y Smith, 2004), es decir, cuando su vigor, tolerancia a la desecación y longevidad se encuentran en los niveles más altos. Dado que estas características son difíciles de identificar al momento de la colecta, se requiere valorar la madurez óptima de la semilla, a través de los cambios de color, tanto del fruto como de la semilla y la fase de dispersión (Rao *et al.*, 2007).

Después de realizada la colecta de los propágulos, es necesario evaluar su calidad por la capacidad para germinar y producir una planta normal (Doria, 2010), la que depende de numerosos factores como las condiciones ecológicas y nutricionales de la planta madre, el origen del polen con el que fueron fecundadas, y del desarrollo de los embriones y de todas las estructuras internas. Los daños físicos y el estrés fisiológico son determinantes de la calidad porque pueden reducir el vigor y producir plántulas anormales, y en consecuencia plántulas más débiles susceptibles al estrés (Carvalho y Nakagawa, 2000). Generalmente estos daños no se detectan a simple vista y dificultan la selección de semillas de buena calidad.

Dado que la apariencia externa no permite determinar si una semilla está viva o no, existen pruebas específicas para evaluar el estado fisiológico y capacidad germinativa. Esencialmente hay dos tipos de pruebas, las pruebas de germinación que mide la proporción de semillas que son capaces de germinar y las pruebas de viabilidad (prueba de corte, rayos X, conductividad eléctrica, prueba de tetrazolio, tinción de tejidos y extracción de embriones, que permiten clasificar a las semillas como vivas (viables) o muertas (Gosling, 2004). Estas pruebas permiten estimar la calidad de las semillas, sin embargo, muchas de ellas son pruebas destructivas (Masetto *et al.*, 2007) o difíciles de aplicar en semillas pequeñas.

La prueba de rayos X que es una metodología útil para evaluar la calidad física de las semillas es un método rápido, no destructivo y eficiente. Con este método se observa el desarrollo del embrión a través de imágenes radiográficas, así como infestaciones bióticas, daños mecánicos y daños por deshidratación, entre otros atributos (Bino *et al.*, 1993). La técnica de rayos X permite detectar anomalías en los tejidos internos de las semillas y junto con la prueba de

germinación, se generan estimaciones confiables del desarrollo de los embriones y de las características morfológicas de calidad y deterioro de las semillas.

La técnica de rayos X es recomendada para evaluar semillas pequeñas en las que a simple vista es difícil percibir daños físicos o detectar embriones poco desarrollados (Schmidt, 2007). Hasta el momento no hay información en la literatura, respecto a las intensidades de irradiación para evaluar la calidad de las semillas de *Tillandsia*. A pesar de que esta prueba se implementó desde 1953 para evaluar calidad de semillas, los trabajos se han enfocado principalmente a semillas forestales (Massetto *et al.*, 2009). El rango con el que se han evaluado depende del equipo utilizado así como del tamaño, grosor de la testa y del contenido de humedad de las semillas (ISTA, 1999; Simak, 1991; Massetto *et al.*, 2009).

Las semillas del género *Tillandsia* miden menos de 5 mm, y se caracterizan por poseer una cubierta semiplumosa, endospermo, un solo cotiledón, vestigios de hojas primarias y secundarias, ápice del brote e hipocotilo. El embrión llena sólo un tercio del volumen total y siempre ocupa la posición opuesta al punto de inserción de la pared del ovario. Contienen un apéndice epidérmico plumoso y consecuentemente su dispersión es anemócora. Cada semilla se inserta mediante su apéndice en la capsula dehiscente que al abrirse las transporta por el aire y se dispersan a través del bosque. El apéndice funciona como “adherente” a los troncos y ramas de los árboles, y es una estructura para la absorción de agua mediante tensión y capilaridad (Esteba, 2002).

A pesar de que se han documentado en la última década, aspectos de la morfología y mecanismos de dispersión, se han tenido pocos avances en el conocimiento de la capacidad

germinativa y los factores determinantes de la viabilidad en las semillas de la familia *Bromeliaceae* (Pineheiro y Borghetti, 2003; Vadillo *et al.*, 2004; Palaci *et al.*, 2004; Scatena *et al.*, 2006; Tarré *et al.*, 2007; Toro-Rosario, 2007; Tirado *et al.*, 2007; Marcia-Vieira *et al.*, 2007; Pereira *et al.*, 2009; Pereira *et al.*, 2010; Mantovani e Iglesias, 2010). Se estima que se ha evaluado menos de 5% de las especies conocidas. Para las especies endémicas de México del género *Tillandsia*, no existen estudios que documenten la colecta y calidad de semillas. La prueba de germinación y de rayos X puede ser de gran ayuda para determinar la calidad, sin embargo, no existen informes para este género.

El presente trabajo describe la colecta de semillas de seis especies de *Tillandsia*, la evaluación de la calidad física y capacidad germinativa a través de rayos X, y una prueba de germinación para estimar la calidad de las semillas producidas por las plantas de *Tillandsia* localizadas en los bosques templados de Santa Catarina Ixtepeji, Sierra Norte del estado de Oaxaca, México.

## **Materiales y métodos**

### *Colecta de material biológico*

Para realizar la presente investigación se seleccionaron especies de *Tillandsia*, reportadas con algún tipo de uso, presentes en el área comunal de Santa Catarina Ixtepeji, de ellas se seleccionaron principalmente especies endémicas y debido a la cantidad de semillas que se requirieron para los diferentes evaluaciones, se seleccionaron especies tipo tanque (mayor producción de semillas vs. tipo atmosférico). De febrero a junio de 2010, se realizó una colecta de semillas de: *Tillandsia carlos-bankii*, *T. prodigiosa*, *T. bourgaei*, *T. violacea*, *T. makoyana* y *T.*

*fasciculata*, en los bosque templados de Santa Catarina Ixtepeji, Sierra Norte de Oaxaca, México (Figura 1 y Tabla 1).

En la zona de colecta el clima varía de semicálido-subhúmedo con lluvias en verano a semifrío-subhúmedo con lluvias en verano, presenta una isoterma media anual que oscila entre los 11 y 16 ° C. El rango de la precipitación media anual es de 600 a 1300 mm (INEGI, 1998).

Tabla 1. Descripción general de distribución y distinción de las seis especies de *Tillandsia* objeto de estudio.

Descriptor general	Especie de <i>Tillandsia</i> *					
	<i>carlos-bankii</i>	<i>makoyana</i>	<i>prodigiosa</i>	<i>bourgaei</i>	<i>fasciculata</i>	<i>violacea</i>
Hábitat o vegetación asociada	Pino-encino (1900-2900 msnm)	Pino-encino (50-2320 msnm)	Pino-encino (1800-2800 msnm)	Encino-pino (600-3100 msnm)	Encino y selvas bajas (1500-2000 msnm)	encino-pino, mesófilo de montaña, pino-encino (600-3100 msnm)
Distribución	Endémica de Oaxaca	Endémica de México: noreste a sureste	Endémica de México: sureste	Endémica de México	Noreste, Centro y sureste de México	Centro y sureste de México
Características de la inflorescencia	Cilíndrica de 57-70 cm de largo, corola verde	inflorescencia erecta paniculada de hasta 1 m, flores violetas	Tipo péndula, bipinnada, subcilíndrica de 30-60 cm de longitud, corola verde cremoso	Erecta, cilíndrica de 26 a 30 cm, corola verde o amarillo verdusco	Usualmente paniculada, 25 a 60 cm de largo, corola violeta, raramente blancos	Inflorescencia colgante 15 a 35 cm de largo, corola tubular violeta
Flores por eje floral (aprox.)	70	25	30	30	8	10
Semillas por cápsula (aprox.)	200-250	80-100	180-200	200-250	80-120	200-250
Tipo de semilla	Apéndices plumosos	Apéndices plumoso	Apéndices plumosos	Apéndices plumosos	Apéndices plumosos	Apéndices plumosos
Dispersión de las semillas	Anemócora	Anemócora	Anemócora	Anemócora	Anemócora	Anemócora
Época de dispersión local de semillas	Noviembre-abril	Noviembre-abril	Noviembre-marzo	Marzo-mayo	Mayo-julio	Marzo-junio
Localización en Sta. Catarina Ixtepeji	El punto, Petenera, El Cerezo, Reinoso, Santa Catarina, Tierra Colorada y El Cerezal	Xhia, Puente de Fierro, Peñasquera, Banco de Cantera	El punto, Petenera, El Cerezo, Reinoso, Santa Catarina, Tierra Colorada y El Cerezal	El Punto, Petenera, El Cerezal, Reinoso y Santa Catarina	Xhia y Puente de Fierro	Petenera y Peña Prieta

\*Fuentes: Smith y Downs (1874), Espejo-Serna (2004) y Espejo-Serna *et al.* (2004), Mondragón *et al.* (2008) y datos generados en el laboratorio de epífitas del CIIDIR Oaxaca.

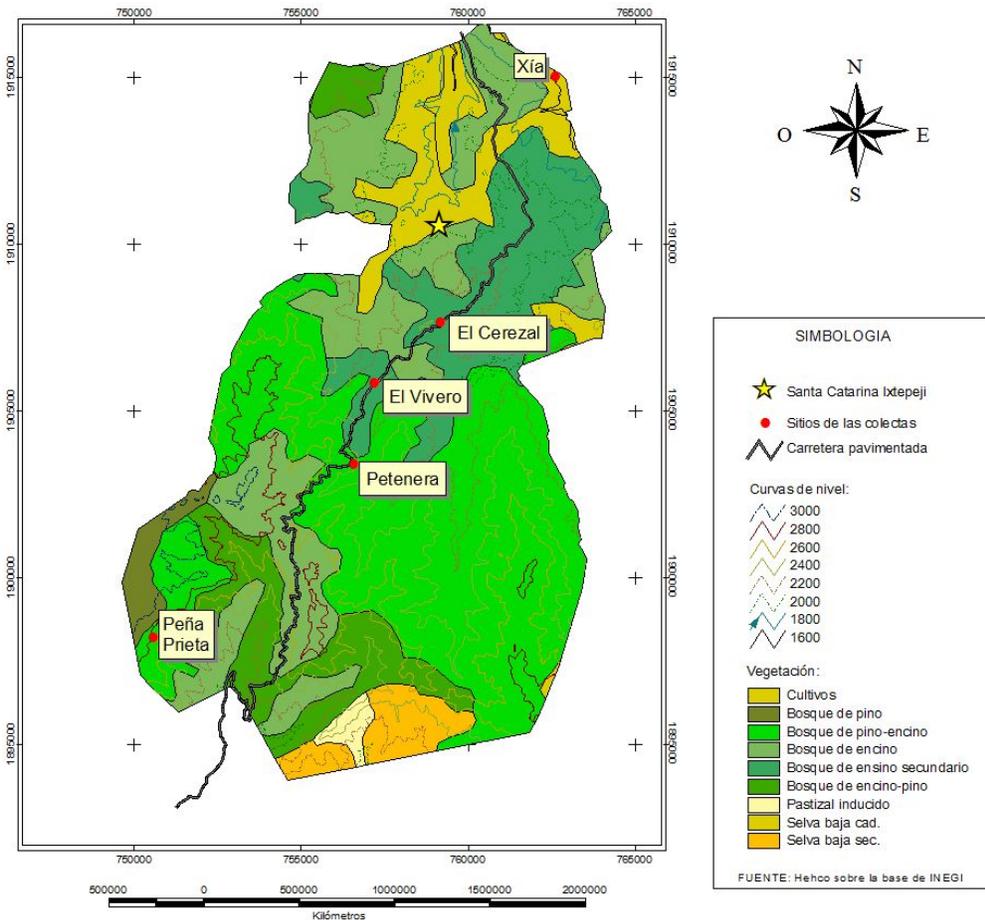


Figura 1. Sitios de colecta de semillas de seis especies de *Tillandsia*

El procedimiento de colecta fue el siguiente:

- a) Definición de la región explorada y de las especies objetivo. Para definir ambos aspectos se revisaron documentalmente los antecedentes florísticos de la región, trabajos de investigación previos, datos de herbarios y mapas de relieve y vegetación (fuente?).
- b) Localización *in situ* de las especies objetivo. Se visitaron los sitios y se determinó la población objetivo a colectar en función del estado de desarrollo reproductivo de las inflorescencias. Se determinó mediante monitoreo semanal que la maduración en la zona objetivo se inicia en el mes

de enero, y que entre febrero y marzo ocurre la dispersión de semillas, durante este periodo se realizó la colecta de semillas.

c) Recolecta de propágulos. Tres a cuatro cápsulas de 50 individuos por población muestreada fueron colectados en forma aleatoria. Los individuos se eligieron aleatoriamente en un radio de 50 a 500 m, distancia que dependió de la abundancia de la especie; se colectó un solo individuo por forofito para reducir la probabilidad de muestrear individuos emparentados. La recolecta se hizo cuando se observaron cápsulas de color café-marrón que estaban liberando semillas (dispersión natural), con el fin de asegurar tener semillas maduras, ya que en este estado las semillas alcanzan el equilibrio de humedad con el ambiente (Hay y Smith, 2004). Cuando se realizó la colecta se observaron individuos con cápsulas abiertas liberando semillas de aspecto plumoso debido a su apéndice. Las cápsulas colectadas estaban cerradas, secas y su textura externa era dura (indicador de semillas maduras), este procedimiento se siguió para evitar coleccionar semillas de otros individuos, del mismo o diferente forofito, y el ataque de depredadores y hongos patógenos. En el caso de *T. fasciculata* y *T. violacea*, fue necesario coleccionar semillas de algunos individuos en proceso de dispersión, debido a la escasa disponibilidad de cápsulas cerradas en las poblaciones muestreadas. Las cápsulas se colocaron en bolsas de papel y se etiquetó cada población muestreada (accesión).

Las semillas colectadas en bolsas de papel se secaron a la sombra en un lugar seco, fresco y ventilado para evitar el desarrollo de hongos durante 4 semanas. En este periodo se presentó la dehiscencia de las cápsulas y la liberación de semillas. Una vez obtenida la semilla se realizó la eliminación de impurezas (restos de cápsulas) en forma manual con ayuda de guantes estériles, pinzas y una lámpara con lupa. Se descartaron las semillas vanas o con algún daño estructural visible. Inmediatamente después se seleccionaron y separaron las semillas que serían utilizadas en los experimentos.

### *Evaluaciones de calidad física y germinación.*

Las pruebas de calidad física y de germinación se realizaron en el laboratorio de semillas del Banco de Germoplasma de la Secretaría de Desarrollo Agropecuario, Forestal y Pesca del Gobierno del Estado de Oaxaca, México.

Prueba de calidad física. La calidad física de cada una de las especies *Tillandsia carlos-bankii*, *T. prodigiosa*, *T. bourgaei*, *T. violacea*, *T. makoyana* y *T. fasciculata*, se evaluó con la técnica de rayos X, en una muestra aleatoria de 200 semillas visualmente sanas, dividida en 4 repeticiones de 50 semillas cada una. Las semillas se pegaron a una placa de plástico autoadherible de polipropileno y se colocaron sobre una placa de acrílico transparente en la cámara de irradiación no digital Faxitron X-Ray (Specimen Radiography System), modelo MX-20®, donde se expusieron por 10 segundos a la intensidad de irradiación de 18 kV. Posteriormente las placas se revelaron en una impresora digital para rayos X, procesador Hope X-Ray modelo 319 Micro-Max®. Finalmente, cada placa radiográfica fue examinada mediante un transiluminador de luz blanca, para contabilizar el número de semillas sanas (embrión completamente desarrollado), con daño estructural o malformadas (embrión parcialmente desarrollado), y sin estructuras internas desarrolladas o vanas (sin embrión o vacías). Los resultados se expresaron en porcentaje.

Prueba de germinación. La capacidad germinativa de las semillas recolectadas de cada especie se evaluó, en un diseño experimental completamente al azar con 12 repeticiones de 50 semillas de las especies *T. bourgaei*, *T. prodigiosa*, *T. carlos-bankii*, y *T. makoyana*. En *T. violacea*, y *T. fasciculata* se utilizaron seis repeticiones debido a la baja disponibilidad de semillas. Cada lote o repetición se colocó en una caja petri de vidrio esterilizado, que contenía un papel filtro humedecido con 4 ml de

agua destilada. La germinación se hizo en una cámara de germinación Light-Dark Seedburo® con fotoperiodo neutro (12 horas luz) y temperatura constante de 25 °C. Una vez germinadas las primeras semillas, cada 24 horas se contabilizó el número de semillas germinadas por la elongación del hipocótilo visible a simple vista, durante 20 días, cuando se obtuvo la germinación máxima. Con la información recopilada se estimó el porcentaje, y las tasas absoluta y media (T50%) de germinación.

#### *Análisis estadístico*

Con el fin de evaluar las diferencias estadísticas de las especies evaluadas en

El porcentaje y las tasas de germinación absoluta y (T50%) fueron transformados con la expresión Arcoseno (Zar, 1999) para volverlos normales. Los datos transformados se analizaron con un análisis de varianza (ANOVA) y se aplicó la comparación múltiple de medias por la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) cuando se encontraron diferencias significativas entre las especies evaluadas. Se hizo un análisis de correlación simple de Pearson ( $P \leq 0.05$ , t de Student) entre el porcentaje de semillas germinadas y la calidad física determinada por la prueba de rayos X. Los análisis se realizaron con el paquete estadístico SPSS (11.0 para Windows).

## Resultados

Durante la exploración y recolección de semillas de bromelias se obtuvo una colección de seis muestras poblacionales de: *Tillandsia carlos-bankii*, *T. prodigiosa*, *T. bourgaei*, *T. makoyana*, *T. violacea* y *T. fasciculata*, en los bosques de Santa Catarina Ixtepeji, Oaxaca (Tabla 2). En el año 2010, en las especies presentes en la zona de estudio se observó alta producción de semillas, sin embargo, se presentó reducida disponibilidad o baja liberación de semillas de *T. violacea* y *T. fasciculata*. Se observó variación en la madurez de las semillas de las seis especies evaluadas.

Tabla 2. Especies colectadas de *Tillandsia* en Santa Catarina Ixtepeji y generalidades del lugar de colecta.

Especie	Tipo de vegetación	Lugar de colecta	Fecha de colecta (día, mes, año)	Latitud (grados)	Longitud (grados)	Altitud (msnm)
<i>T. bourgaei</i>	Bosque de encino secundario	El cerezal	09/03/2010	17.15960	96.35890	2245
<i>T. carlos-bankii</i>	Bosque de pino encino	Petenera	20/02/2010	17.12281	96.35250	2520
<i>T. fasciculata</i>	Selva baja caducifolia	Xia	03/03/10 19/07/10	y 17.18072	96.31359	1514
<i>T. makoyana</i>	bosque de encino	Xia	07/03/2010	17.16389	96.31515	1846
<i>T. prodigiosa</i>	Bosque de pino encino	Vivero	08/03/2010	17.13040	96.57199	2404
<i>T. violácea</i>	Bosque de pino encino	Peña Prieta	20/02/10 27/06/10	y 17.09413	96.38103	2835

### Calidad física de semillas

En la prueba de rayos X se observaron semillas con estructuras completas, con embriones semidesarrollados y sin estructuras internas. Se presentaron diferencias significativas entre especies en semillas con estructuras completas ( $F = 4.704$ ;  $gl = 5$ ;  $P \leq 0.01$ ) y semillas con estructuras malformadas o semillas con embriones parcialmente desarrollados ( $F = 16.486$ ;  $gl = 5$ ;  $P \leq 0.01$ ). En el porcentaje de semillas vanas no se presentaron diferencias significativas. En el porcentaje de

semillas completas e incompletas *Tillandsia violacea* difirió significativamente de las otras especies, ya que presentó el mayor porcentaje de semillas incompletas y el menor de viables (Tabla 3).

Tabla 3. Porcentaje de semillas sanas, incompletas y vacías base en la prueba de rayos X, .en seis especies de *Tillandsia*.

Especie	Viables o completas (%)	Incompletas (%)	Vacías o vanas (%)
<i>T. prodigiosa</i>	79.4 a <sup>1</sup>	15.0 a	5.6 a
<i>T. carlos-bankii</i>	89.0 a	4.5 a	6.5 a
<i>T. bourgaei</i>	86.3 a	7.5 a	8.1 a
<i>T. makoyana</i>	83.4 a	7.9 a	8.7 a
<i>T. fasciculata</i>	68.3 a	14.0 a	17.7 a
<i>T. violacea</i>	61.3 b	31.6 b	8.1 a

<sup>1</sup> En columna, los porcentajes con la misma letra no difieren significativamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

Con base en las muestras de semillas colectadas y evaluadas, los resultados de la prueba de rayos X mostraron que *Tillandsia carlos-bankii*, *Tillandsia bourgaei* y *Tillandsia makoyana* no difieren estadísticamente en los porcentajes de semillas sanas o viables y semillas incompletas aun cuando sus porcentajes presentan un intervalo de variación de 68.3% a 89.0% y de 4.5% a 15.0%, respectivamente.

#### *Capacidad germinativa de semillas*

La germinación de las semillas colectadas de las seis especies presentó un patrón semejante, ya que en todas la germinación se inició a partir del tercer día después de la siembra. La germinación de la semilla se determinó cuando se observó un color claro en el hipocotilo. El patrón de germinación mostró una distribución sigmoideal, con un inicio lento, una aceleración exponencial y finalmente la

estabilización. A partir del día 19 no se incrementó la germinación (Figura 2). Las semillas no germinadas se contaminaron con hongos. En el porcentaje de germinación se presentaron diferencias significativas entre las especies evaluadas. *T. bourgaei* presentó el mayor porcentaje de germinación (83.3%), en contraste, con *T. violacea* (15.16%) (Tabla 4).

Tabla 4. Porcentaje de germinación, tasa de germinación y tiempo medio de germinación (T50%) en semillas de seis especies de Tillandsia.

Especie	Germinación (% Promedio±SD)	Tasa de Germinación	T50%
<i>T. prodigiosa</i>	75.8 ± 5.07 b <sup>1</sup>	9.80 c	4.8 a
<i>T. carlos-bankii</i>	79.5 ± 6.61 b	11.8 bc	3.0 b
<i>T. bourgaei</i>	83.3 ± 5.81 ab	11.2 c	3.0 b
<i>T. fasciculata</i>	45.0 ± 7.2 c	14.0 b	---
<i>T. makoyana</i>	79.8 ± 9.1 ab	23.2 a	4.0 ab
<i>T. violacea</i>	15.2 ± 1.8 d	4.0 d	---

<sup>1</sup> En columna , los porcentajes seguidos de letras iguales no difieren significativamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

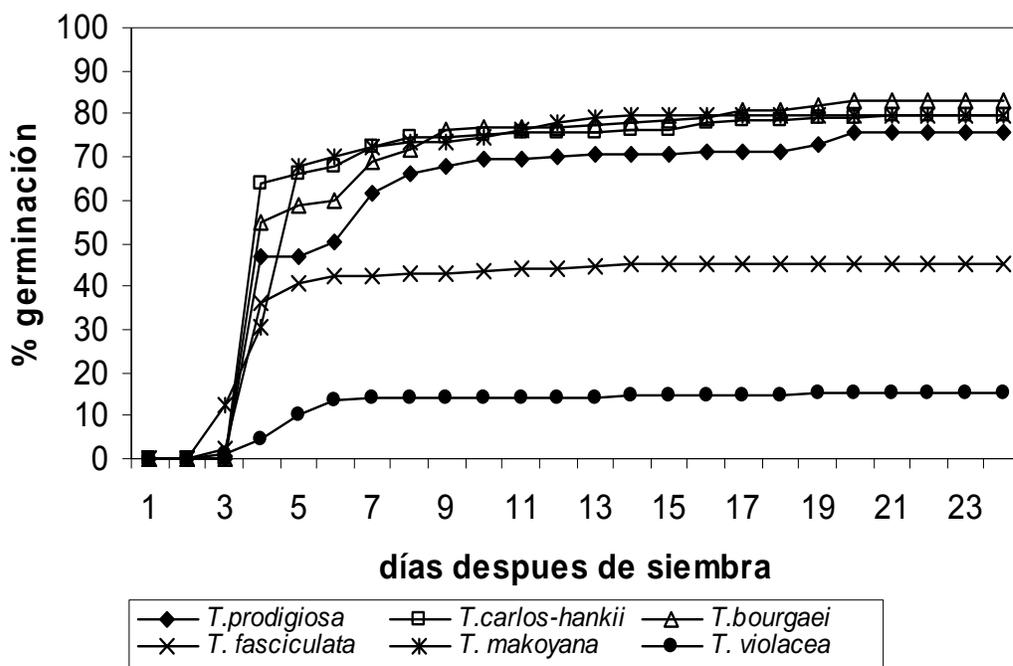


Fig. 2 Porcentaje de germinación acumulada de seis especies de *Tillandsia*, evaluadas en cámara de germinación a 25°C y fotoperiodo neutro.

Se determinó La correlación entre el porcentaje de germinación y el porcentaje de semillas dañadas en la prueba de rayos X fue positiva significativa ( $r=0.69$ ,  $P<0.05$ ).

## Discusión

El primer paso de la conservación *ex situ* es la colecta de semillas. La sistematización de este procedimiento es fundamental para obtener semillas de alta calidad física. Sin embargo, existe poca información sobre la mejor época de colecta de semillas de especies silvestres. Para *Tillandsia* no se encuentra documentación acerca de los indicadores físicos y fisiológicos de las semillas maduras. Los resultados muestran las dificultades para determinar el punto exacto de madurez de las seis especies evaluadas. Aunque en este caso se recolectaron cápsulas de color café marrón sin abrir, se requiere un estudio más detallado sobre la fenología de floración, la formación de semilla y dispersión.

La variación en la madurez de las semillas depende de diferencias en el tiempo de floración, entre plantas y dentro de la inflorescencia de una misma planta. En plantas silvestres en particular de las seis especies evaluadas, la madurez de las semillas parece estar determinada por el microhabitat de desarrollo de cada planta y las condiciones climáticas. El hábitat epífita se caracteriza por condiciones ambientales variables y heterogéneas.

Las condiciones heterogéneas propician variaciones diferenciales en las etapas de desarrollo, aún en genotipos semejantes (García-Franco, 1990; Benzing, 2000; Mondragón, 2000; Gravendeel *et al.*, 2004). Durante la colecta de semillas se determinó gran variación en la madurez de las semillas, ya que fueron necesarias varias visitas para encontrar el momento adecuado para la recolección de propagulos. Los indicadores visuales de la maduración de cápsulas deben ser seleccionados para cada especie, con bastante cuidado para establecer una relación alta con la madurez de la semilla (Rao *et al.*, 2007). En este trabajo, la tonalidad marrón de las cápsulas y el secado posterior fueron aceptables, ya que en cuatro especies se obtuvieron porcentajes de germinación mayores a 75% (Engels y Visser, 2003), excepto en *T. fasciculata* y *T. violacea* cuyos porcentajes fueron inferiores a 75%.

Otro indicador que también ayudó a determinar la madurez de la semilla fue el estado de madurez de la planta madre al momento de colecta la planta madre, ya que estas especies se consideran monocárpicas porque solo producen inflorescencias y frutos una vez en su ciclo de vida y después mueren (Hurnung-Leoni y Sosa 2004). No obstante, *T. violacea* y *T. fasciculata* son policarpicas, aunque las rosetas del año en curso mueren. Esta condición se reflejó en las pruebas de rayos X, y germinación y producción de semillas, ya que las especies monocarpicas estrictas como *T. carlos-bankii*, *T. bourgaei*, *T. prodigiosa* y *T. makoyana* produjeron mayor cantidad de semillas viables; por el contrario, *T. violacea* y *T. fasciculata* produjeron menor cantidad de semillas viables. Aunque también debe considerarse el ambiente que influye en el desarrollo de manera importante, principalmente en relación con la disponibilidad de agua.

El ambiente epifito se caracteriza por una baja disponibilidad de agua y nutrimentos, así como por poca disponibilidad de polinizadores (Benzing, 1981, 1990; Nadkarni, 1984; Bennett, 1991). Estas condiciones imponen presiones de selección que han llevado a diferentes adaptaciones, y los individuos sobrevivientes regularmente poseen mayores valores adaptativos a las presiones del ambiente (Benzing 1981, 1990; Richards, 1996).

*T. carlos-bankii*, *T. bourgaei*, *T. prodigiosa* y *T. makoyana* son especies que tienen un solo evento reproductivo durante su ciclo de vida, que se reproducen por semilla y que han desarrollado varias formas de polinización, como autopolinización, polinización cruzada, polinización automática y agamosperma. Todos estos mecanismos como parte de las estrategias reproductivas en el ambiente epifito, que favorecen la colonización de nuevos forofitos y el intercambio genético que ayuda a incrementar la variabilidad genética contenida en la semilla (Mondragón *et al.*, 2007).

La calidad de las semillas también se ve afectada por daños o el estrés que sufren durante la maduración, y que pueden reducir el vigor y producir plántulas anormales; estas plántulas son débiles y más susceptibles a condiciones adversas (Carvalho y Nakagawa, 2000). Durante la colecta de semillas aquí utilizadas se observaron daños en el escapo floral; aunque se aseguró que las semillas utilizadas en la evaluación fueran sanas y enteras no se descarta un posible efecto del estado de la semilla en el desarrollo de las plantulas. Este fenómeno se observó con cierta precisión en la prueba de rayos X en la que se detectaron semillas vacías, y con irregularidades o estructuras internas incompletas. Esta condición fue más evidente en *Tillandsia violacea* y *T. fasciculata*, ya que en las poblaciones muestreadas se observaron individuos con lesiones severas o comidas, y daños en el escapo floral o espigas. No obstante, a pesar de los daños severos que sufren estas plantas se lograron obtener cápsulas y semillas visualmente sanas aunque con una cantidad de semillas reducida.

En las regiones de colecta de *Tillandsia violacea* y *T. fasciculata* se observó mayor cantidad de individuos dañados o daños por herbivoría, al respecto, Yamamura *et al.* (2007) mencionan que la presión de herbivoría en la floración fuerza a las poblaciones a modificar la fenología reproductiva, con el retraso o ampliación de los periodos de floración evitando la coincidencia con los requerimientos de alimentos de los herbívoros.

#### *Calidad física de la semilla*

La utilización de 18 KV por 10 segundos, permitieron la adecuada visualización de la morfología interna de las semillas en seis especies de *Tillandsia*. A través de las imágenes radiográficas fue posible clasificar a las semillas con estructuras completas, parcialmente desarrolladas y vanas. En este estudio se asume que semillas con estructuras completas producen plántulas sanas y vigorosas, en tanto que las semillas parcialmente desarrolladas pueden generar o no plántulas dependiendo de la magnitud

del daño. En otros trabajos se ha encontrado que semillas con embriones parcialmente desarrollados o con daños originan plántulas anormales (Machado y Cícero, 2003; Olivera *et al.*, 2003). En general, se puede asumir que el análisis radiográfico generó un estimador robusto de la viabilidad de las semillas con base en el conteo de semillas completas, incompletas y vacías o vanas, y en los estimadores de germinación generados.

### *Capacidad germinativa*

La capacidad germinativa de *Tillandsia* concuerda con lo encontrado por otros autores en condiciones de laboratorio. Benzing (1978) encontró una variación 85 a 90% en *T. paucifolia*; García-Franco (1990) determinó en *Tillandsia deppiana* una variación de 80% a 90%; Chi (1996) oscilaciones de 73 a 82% en *T. brachycaulos* y *T. streptophylla*. Los resultados obtenidos en este trabajo son ligeramente inferiores a los de Castro Hernández *et al.* (1999) en *T. guatemalensis* (98 a 97.65%) y Mondragón (2000) en *T. brachycaulos* (100%). De las seis especies evaluadas, *T. violacea* presentó porcentajes inferiores 15.2 % en forma similar a lo obtenido por Vadillo *et al.* (2004) en *Puya raimondii*, 24.6 a 74.9% en ambiente natural, y por Tarré *et al.* (2007) en *Encholirium scrutor* (45%). La capacidad germinativa está determinada por la madurez del embrión y el desarrollo completo de todas las estructuras de la semilla. En este trabajo, las especies con mayores porcentajes de semillas incompletas y vanas con base en la evaluación de radiografía presentaron bajos porcentajes de germinación. Como en los casos de *T. fasciculata* y *T. violacea* que presentaron semillas de alta proporción de estructuras incompletas y vanas y que, consecuentemente, presentaron los más bajos porcentajes de germinación inferiores a 50% (Tabla 3). Adicionalmente, se encontró una correlación significativa ( $r= 0.69$ ,  $P < 0.05$ ) entre el porcentaje de semillas completas y el porcentaje de germinación. Los resultados muestran que la prueba de rayos X es útil en la selección de semillas de *Tillandsia* dado el tamaño pequeño de la semilla.

## Conclusión

Las muestras de semilla de seis especies de *Tillandsia* presentaron diferencias significativas en la proporción de semilla completas (viables) e incompletas. *T. violacea* presentó los más bajos porcentajes de semillas completas (61.3%) y altos porcentajes de semillas incompletas (31.6%) en comparación con *T. prodigiosa*, *T. carlos-bankii*, *T. bourgaei*, *T. makoyana* y *T. fasciculata* que presentaron porcentajes mayores a 80% y menores a 16%, en los porcentajes de semillas completas y semillas incompletas, respectivamente. En la cantidad de semillas vanas no se presentaron diferencias significativas.

Las especies evaluadas presentaron diferencias en su capacidad germinativa. *T. bourgaei* presentó el mayor porcentaje (83.3%), y le siguieron en orden descendente *T. makoyana*, *T. carlos-bankii*, *T. prodigiosa*, *T. fasciculata* y *T. violacea* (15.16%). El patrón de germinación se repitió en la tasa de germinación. La proporción de semillas completas (análisis radiográfico) y la capacidad germinativa mostraron una correlación positiva y significativa.

## Literatura citada

- Bennett, B. C. 1991. Comparative biology of Neotropical epiphytic and saxicolous *Tillandsia* species: population structure. *Journal Tropical Biology* 7: 361-371
- Benzing D.H. 1978. Germination and early establishment of *Tillandsia circinata* Schlecht. (Bromeliaceae) on some of its hosts and other supports in Southern Florida. *Selbyana* 5:95-106.
- Benzing, D.H. 1981. The population dynamics of *Tillandsia circinnata* (Bromeliaceae): cypress crown colonies in southern Florida. *Selbyana* 5: 256-263
- Benzing, D.H. 1990. Vascular epiphytes. Cambridge University Press. Cambridge. 346 pp.
- Benzing D.H. 2000. Bromeliaceae. Profile of an Adaptative Radiation. Cambridge University Press. Cambridge. 690 p.
- Bino R.J., Aartse, J.W. y W.J. Vanderburg. 1993. Non destructive X-ray analysis of arabidopsis embryo mutants. *Seed Science Research*, 3 (3): 167-170.
- Castro-Hernández, J.C., Wolf, J.H.D., García-Franco, J.G. y M. González-Espinosa. 1999. The influence of humidity, nutrients and light on the establishment of the epiphytic bromeliad *Tillandsia guatemalensis* in the highlands of Chiapas, Mexico. *Revista de Biología Tropical* 47(4): 763–773.
- Carvalho, N.M y J. Nakagama, 2000. Sementes: ciência, tecnologia e produção. Jaboticaba, FUNEP 588 p.
- Chi F., 1996. Germinación y Viabilidad de *Tillandsia* en la Península. Tesis de licenciatura. ITA No. 2. SEP. Conkal, Yucatán. 54p.
- Chin H.F., 1994. Seedbanks: conserving the past for the future. *Seed Science and Technology* 22, 385-400.
- Damania A.B. 1996. Biodiversity conservation: a review of options complementary to standard *ex situ* methods. *Plant Genetics Resources Newsletter* 107, 1-18
- Doria J., 2010. Generalidades sobre semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos Tropicales* 31 (1): 74-85.
- Engels, J.M.M y Visser, L.2003. A guide to effective management of germplasm collections. IPGR Handbook for Genebanks No.6. IPGR, Roma, Italia
- Espejo, S. A., López-Ferrari A. R, Martínez-Correa N, Pulido-Esparza V. 2007. Bromelias Flora de Oaxaca, México: Richness and Distribution. *Acta Botánica Mexicana* 81:71-14

- Esteba, F.O. 2002. Bromelias para aficionados. Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales/Comité de Bromeliología. Caracas, Venezuela. 230 p.
- García-Franco, J. G. 1990. Biología reproductiva de *Tillandsia deppeana* Steudel. (Bromeliaceae). Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. México. 80 p.
- Gravendeel, B., A. Smithson, W. Slik y A. Schuiteman. 2004. Epiphytism and pollinator specialization: drivers for orchid diversity? *The Royal Society* 359: 1523-1535.
- Gold, K., P. León-Lobos y M. Way. 2004. Manual de recolección de semillas de plantas silvestres para conservación a largo plazo y restauración ecológica. Boletín INIA No. 110. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Intihuasi. La Serena, Chile. 62 p.
- Gosling, P.G. 2004. Viability Testing. In: R.D. Smith, J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W. Pritchard and R.J. Probert (eds). *Seed Conservation: Turning Science Into Practice*. Royal Botanic Gardens Kew, UK. 447–481.
- Hay, F. y R. D. Smith, 2004. Seed maturity: when to collect seed from wild plants. In: R.D. Smith, J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W. Pritchard and R.J. Probert (eds). *Seed Conservation: Turning Science Into Practice*. Royal Botanic Gardens Kew, UK. 99–133.
- Hurning-Leoni, C. y V. Sosa, 2006. Morphological variation in *Puya* (Bromeliaceae): an allometric study. *Plant Systematics and Evolution*. 256: 35-53.
- International Seed Testing Association (ISTA). 1999. *International Rules for Seed Testing*. Seed Science and Technology. 27( Suppl.) 333 p.
- Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática, (INEGI) 1998. Carta topográfica Oaxaca E 14-9 escala 1: 250 000
- Iriondo, A. J. M., 2001. Conservación de germoplasma de especies raras y amenazadas (Revisión). *Investigación Agrícola: Producción Protección Vegetal* 16 (1): 6-24
- Machado C.F. y S.M., Cícero, 2003. “Aroeira-branca” (*Litbraea molleoides* (Vell.) Engl. – Anacardiaceae) seed quality evaluation by the X-ray test. *Scientia Agricola*, Piracicaba, 60 (2) 393-397.
- Mantovani, A. y R.R. Iglesias. 2010. The effect of water stress on seed germination of three terrestrial bromeliads from restinga. *Revista Brasileira de Botânica*. 33: 201-205.
- Mascia-Vieira, D.C., F. Socolowski y M. Takaki. 2007. Germinacao de sementes de *Dyckia tuberosa* (Vell.) Beer (Bromeliaceae) sob diferentes temperaturas em luz e escuro. *Revista Brasileira de Botânica* 30: 183-188.

- Masetto, T.E., Davide, A.C., Silva, E.A.A. y J.M.R. Faria, 2007. Avaliação da qualidade de sementes de *Eugenia pleurantha* (Mytaceae) pelo teste de raios X. *Revista Brasileira de Sementes*. 29 (3): 170-174.
- Melo B.P.R., Oliveira J.A., Moreira de Carvalho M.L, Mendes G.R, y C.B. Oliveira, 2009 Aplicação do teste de raios x no estudo da morfologia interna e da qualidade fisiológica de aquênios de arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.). *Revista Brasileira de Sementes*. 31(2): 146-159.
- Mcnelly J.A., Miller K.R., Reid W.V., Mittermeier R.A. y T.B. Werner, 1990. *Conserving the World Biological Diversity*. IUCN, WCR, CI, WWF-US, The World Bank, Gland, Suíza, 193 pp.
- Mondragón D. 2000. Dinámica poblacional de *Tillandsia brachycaulos* Schltdl. En el parque nacional de Dzibilchaltún, Yuc. PhD Thesis. Centro de Investigación Científica de Yucatán, México. pp. 91
- Mondragón, D. y M.I. Ramírez 2007. Diversidad, fenología floral e interacción animal-planta de las bromelias epífitas presentes a lo largo del gradiente altitudinal del bosque de pino-encino de Ixtepeji, en la Sierra Norte de Oaxaca. Informe Final SEP-CONACYT 2004-CO1-48136.
- Nadkarni, N. M. 1984. Epiphyte biomass and nutrient capital of a neotropical Elfin forest. *Biotropica* 16: 249-256.
- Norma Oficial Mexicana Nom-059. Semarnat-2001. Publicada En El Diario Oficial, México 6 de Marzo 2002.
- Norma Oficial Mexicana Nom-059. Semarnat-2001. Publicada En El Diario Oficial, México 30 de Diciembre 2010.
- Oliveira, L.M.; Carvalho, M.L.M.; y A.C. Davide, 2003. Utilização do teste de raios-X na avaliação da qualidade de sementes de Canafístula *Peltophorium dubium* (Sprengel) Taubert. *Revista Brasileira de Sementes*. 25 (1): 116-120.
- Oliveira, L.M., Carvalho, M.L.M., Guimarães, R.M. y T.E Masetto, 2004. Avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl. e *T. impetiginosa* (Martius Ex A.P. de Candolle) Standley (Bignoniaceae) pelo teste de raios X. *Revista Brasileira de Sementes*. 26 (2): 138-143.
- Palaci, C.A., G.K. Brown and D.E. Tuthill. 2004. The seed of *Catopsis* (Bromeliaceae: Tillandsioideae). *Systematic Botany* 29: 518-527.
- Pereira, A.R., A.C. Silva-de-Andrade, T. Sampaio-Pereira, R. Campotrini-Forzza y A. Saade-Rodrigues. 2009. Comportamento germinativo de espécies epífitas e rupícolas de Bromeliaceae do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*. 32: 827-838

- Pereira, A.R., A.C.S. Andrade, T.S. Pereira, R.C. Forzza y A.S. Rodrigues. 2010. Morphology aspects of seed, germination and storage of *Pitcairnia albiflos* (Bromeliaceae). *Seed science and Technology* 38: 79-87.
- Pereira, C., F.L. Cuquel y M. Panobianco. 2010. Germinacao e armazenamento de sementes de *Nidularium innocentii* (Lem.). *Revista Brasileira de Sementes* 32: 36-41.
- Pinheiro, F. y F. Borghetti. 2003. Light and temperature requirements for germination of seeds of *Aechmea nudicaulis* (L.) Griesbach and *Streptocalyx floribundas* (Martius ex Schultes F.) Mez (Bromeliaceae). *Acta Botánica de Brasil*. 17: 27-35.
- Rao, N.K., Hanson, J., Dulloo, M., Ghosh, K., Nowell, D., y M. Larinde, 2007. Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma. Manuales para bancos de germoplasma No. 8. Biodiversity International. Roma, Italia.
- Richards, P. W. 1996. The tropical rain forest. Cambridge University Press. Cambridge. Pp.139-154.
- Ricker, M., I. Ramírez-Krauss, G. Ibarra-Manríquez, E. Martínez, C. Ramos, G. González-Medellín, G. Gómez-Rodríguez, J.L. Palacio-Prieto y H.M. Hernández. 2007. Optimizing conservation of forest diversity: a country-wide approach in Mexico. *Biodiversity and Conservation* 16:1927-1957.
- Scatena, V.L., S. Segecin y A.I. Coan. 2006. Seed morphology and post-seminal development of *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) from the "Campus Gerais" Paraná, Southern Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 49: 945-951.
- Schmidt, L. 2007. Tropical Forest Seed. 2007. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2-64.
- Simak, M. Testing of forest tree and shrub seeds by X-radiography. In: Gordon, A.G.; Gosling, P.G.; Wang, B.S.P. (Ed.). *Tree and shrub seed hand book*. Zürich: ISTA, 1991.
- Tarré, E., B.B. Mendes-Pires, A.P. Macano-Guimaraes, L. Alves-Carneiro, R. Campotrini-Forzza y E. Mansur. 2007. Germinability after desiccation, storage and cryopreservation of seeds from endemic *Encholirium* Mart. Ex Schult. & Schult. F. and *Dyckia* Schult. & Schult. F. species (Bromeliaceae). *Acta Botanica Brasilica* 21: 777-783.
- Tirado M., C.J., E. Olivo, E. Fernández, Leon V., J.C. Gaviria y C. Garbiso. 2007. Viabilidad y germinación en semillas de bromelias. Pp: 208-210, In: *Memorias del XVII Congreso Venezolano de Botánica*, 20 -25 mayo de 2007, Maracaibo, Estado del Zulia, Venezuela Maracaibo, Venezuela.

- Toro-Rosario, M., S. Roque, E. Cuevas y M.F. Barberena. 2007. Bromeliad germination: Is Light an important factor in germination. In: Proceeding of ESA/SER Joint Meeting, 5-10 August 2010, San Jose California. San José, CA. USA.
- Vadillo, G., M. Suni y A. Cano. 2004. Viabilidad y germinación de semillas de *Puya raimondii* Harás (Bromeliaceae). Revista. Peruana de Biología. 11: 71-78.
- Villaseñor, J.L. 2004. Los géneros de plantas vasculares de la flora de México. Boletín de la Sociedad Botánica de México. 75:105-135.
- Way, M.J., 2004. Collecting Seed from Non-domesticated Plants for Long-Term Conservation In: R.D. Smith, J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W. Pritchard and R.J. Probert (eds). Seed Conservation: Turning Science Into Practice. Royal Botanic Gardens, Kew, U.K. pp. 165–201
- Yamamura, N., N. Fujita, M. Hayashi, Y. Nakamura y A. Yamauchi. 2007. Optimal phenology of annual plants under grazing pressure. Journal the Theoretical Biology. 246 (3): 530-537 25

## CAPÍTULO II

### EFFECTO DE LA DESECACIÓN A TEMPERATURA CONSTANTE EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE SEIS ESPECIES DE *Tillandsia* L. (Bromeliaceae)

Diana Sosa-Luría<sup>1</sup>, Porfirio Ramírez Vallejo<sup>2</sup>, Julio Arturo Estrada Gómez<sup>2</sup>, José Luis Chavez-Servia<sup>1</sup>, Demetria Mondragón Chaparro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional-Instituto Politécnico Nacional Unidad Oaxaca. Hornos # 1003. Santa Cruz Xoxocotlán. 71230. Oaxaca. México. <sup>2</sup> Posgrado en Recursos Genéticos y Productividad. *Campus* Montecillo. Colegio de Postgraduados.

#### Introducción

La desecación es la fase final del desarrollo de las semillas. Durante la desecación se presentan cambios metabólicos donde el agua disponible en los tejidos se torna altamente viscosa y detiene o minimiza las reacciones químicas de difusión molecular, este sistema previene la desnaturalización de las proteínas, la cristalización de solutos (Bewley y Black, 1994) y les confiere una mayor capacidad de retención de la viabilidad a las semillas.

Todas las semillas difieren en su tolerancia a la desecación, en general, esta variación puede ser atribuida a características de la propia semilla, características intrínsecas de la planta y a condiciones ambientales. Esta capacidad de las semillas para tolerar la desecación es una característica funcional

importante (Tweddle *et al.*, 2003) y en base a ello se pueden clasificar en semillas ortodoxas, recalcitrantes e intermedias (Hong y Ellis 1991').

Se considera comportamiento ortodoxo, a aquellas semillas que con el 5% o menos de contenido de humedad pueden mantener la capacidad germinativa alrededor de 30%; intermedias si toleran la desecación del 10 al 12.5% sin perder viabilidad inferior al 30% y recalcitrantes, cuando la mayor parte o todas las semillas mueren por desecación cuando disminuye el contenido de humedad a 15 o 20% (Hong y Ellis 1996).

Las semillas ortodoxas son liberadas por la planta madre con contenidos de humedad menores al 20% y al entrar en contacto con la temperatura ambiente, dicha humedad puede decrecer un 5%, sin por ello perder viabilidad. Diversos estudios establecen una correlación positiva entre el comportamiento ortodoxo de las semillas a ambientes secos y estacionales (90% de todas las plantas con semilla) (Tweddle *et al.*, 2003) y es común en especies pioneras en climas húmedos (Farnsworth, 2000). Aproximadamente un 50% de las especies silvestres que se presentan en la última etapa sucesional en áreas húmedas, presentan comportamiento ortodoxo (Tweddle *et al.* 2003); también se asocia el comportamiento ortodoxo a especies con semillas pequeñas, bajos contenidos de humedad y dispersión anemócora.

Para hacer eficiente la conservación *ex situ* del germoplasma, es indispensable entender la naturaleza o sensibilidad de las semillas a la desecación. A pesar de que recientemente se han publicado diversos estudios sobre la tolerancia a la desecación de un gran número de especies, en la familia Bromeliaceae, a pesar de su importancia ecológica y económica, y de la amenaza para la extinción de

un gran número de especies de esta familia, son escasas las referencias bibliográficas orientadas a entender esta característica dentro de la familia (Tarré *et al.*, 2007).

Uno de los géneros más diversos dentro de la familia Bromeliaceae es el género *Tillandsia*, cuyos miembros son mayormente epífitos. El género *Tillandsia* en México está representado por 192 especies, 133 de las cuales son endémicas (Espejo-Serna *et al.* 2004). Muchas de estas especies (67 *spp.* Mondragón *et al.* 2010) han sido reportadas con algún tipo de uso, sin embargo su representación dentro de los bancos de germoplasma del país y del mundo son escasos.

Dadas las características de los frutos de las especies del género *Tillandsia* (capsulas dehiscentes), el tamaño de la semilla (<0.5mm) y contenido los contenidos de humedad de las mismas (<10%), se podría pensar que pudieran ser clasificadas como ortodoxas. Ellis *et al.*, 1985 reportaron que las semillas de *Aechmea* spp. y *Ananas* spp. Otros géneros de la familia Bromeliaceae presentan un comportamiento ortodoxo, tolerantes a la desecación.

Sin embargo es necesario establecer la tolerancia a la desecación de las semillas del género *Tillandsia*, por lo que el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la desecación por temperatura en la germinación de las semillas de seis especies de *Tillandsia*, recolectadas en los bosque de Santa Catarina Ixtepeji, Oaxaca y con base a ello clasificar el comportamiento de almacenamiento de sus semillas.

## **Materiales y métodos**

### *Material biológico.*

Las semillas de seis especies de *Tillandsia*, se recolectaron en los bosques de pino encino de Santa Catarina Ixtepeji, Oaxaca. La región de origen de los lotes de semilla se localiza en la región Sierra Norte del estado de Oaxaca, aproximadamente entre los 96° 36' Y 96° 39' LO y entre los 17° 09' y 17° 11' LN. La altitud varía desde 1500 hasta 3200 msnm (INEGI, 1998, Victoria-Villa, 2009). La comunidad vegetal está compuesta principalmente de bosques de pino, presentes en zonas con alturas de aproximadamente 3100 m, en las partes medias (2200 m y 2900 m) predominan encinares y bosque de pino-encino, mientras que en las zonas más bajas la vegetación consiste de encinar arbustivo (Zacarías-Eslava, 2009).

La flora epífita está compuesta por miembros de: Crassulaceae, Bromeliaceae, Orquidaceae, Piperaceae y Polipodiaceae (Victoria-Villa, 2009). Mondragón y Villa- Guzmán (2008) reportan 19 especies de la familia Bromeliaceae, evaluaciones posteriores permiten documentar 22 especies de bromelias epifitas presentes en Santa Carina Ixtepeji (Mondragón, 2010)

### *Especies evaluadas*

Se seleccionaron principalmente especies endémicas de México, de distribución en la Sierra Norte de Oaxaca, ya que esta zona está incluida dentro de las regiones prioritarias para la conservación y considerada dentro de los centros de diversidad de plantas (WWF y IUCN, 1997) y se consideraron específicamente especies de *Tillandsia* que se distribuyen en Santa Catarina Ixtepeji, ya que esta área ha sido reportada como principal centro de recolección de ejemplares de *Tillandsia* para venta en los mercados locales del estado de Oaxaca (Mondragón , 2008). Las especies seleccionadas fueron:

*Tillandsia prodigiosa*, *Tillandsia bourgaei*, *Tillandsia makoyana*, *Tillandsia violacea*, *Tillandsia carlos-hankii* y *Tillandsia fasciculata* (Tabla 1).

Tabla 1. Descripción general de distribución y características generales de las seis especies de <i>Tillandsia</i> colectadas.						
Descriptor general	Especie de <i>Tillandsia</i> *					
	carlos-hankii	makoyana	prodigiosa	bourgaei	fasciculata	violacea
Hábitat o vegetación asociada	Pino-encino (1900-2900 msnm)	encino (50-2320 msnm)	Pino-encino (1800-2800 msnm)	Encino-pino (600-3100 msnm)	bosque de encino y selvas bajas (1500-2000 msnm)	encino- pino, mesófilo de montaña, pino- encino (600-3100 msnm)
Distribución	Endémica de Oaxaca	Endémica de México: noreste a sureste	Endémica de México: sureste	Endémica de México	Noreste, Centro y sureste de México	Centro y sureste de México
Características de la inflorescencia	Cilíndrica de 57-70 cm de largo, corola verde	inflorescencia erecta paniculada de hasta 1 m, flores violetas	Tipo péndula, bipinnada, subcilíndrica de 30-60 cm de longitud, corola verde cremoso	Erecta, cilíndrica de 26 a 30 cm, corola verde o amarillo verdusco	Usualmente paniculada, 25 a 60 cm de largo, corola violeta, raramente blancos	Inflorescencia colgante 15 a 35 cm de largo, corola tubular violeta
Flores por eje floral (aprox.)	70	25	30	30	8	10
Semillas por cápsula (aprox.)	200-250	80-100	180-200	200-250	80-120	200-250
Tipo de semilla	Apéndices plumosos	Apéndices plumoso	Apéndices plumosos	Apéndices plumosos	Apéndices plumosos	Apéndices plumosos
Dispersión de las semillas	Anemócora	Anemócora	Anemócora	Anemócora	Anemócora	Anemócora
Época de dispersión local de semillas	Noviembre-abril	Noviembre-abril	Noviembre-marzo	Marzo-mayo	Mayo-julio	Marzo-junio
Localización en Sta. Catarina Ixtepeji	El punto, Petenera, El Cerezo, Reinoso, Santa Catarina, Tierra Colorada y El Cerezal	Xia, Puente de Fierro, Peñasquera, Banco de Cantera	El punto, Petenera, El Cerezo, Reinoso, Santa Catarina, Vivero, Tierra Colorada y	El Punto, Petenera, El Cerezal, Reinoso y Santa Catarina	Xia y Puente de Fierro	Petenera y Peña Prieta

			El Cerezal			
Lugar de colecta	Petenera	Xia	Vivero	El cerezal	Xia	Peña Prieta
Fecha de colecta	20/02/2010	07/03/2010	08/03/2010	09/03/2010	03/03/10 y 19/07/10	20/02/10 y 27/06/10
Tipo de vegetación	Bosque de pino encino	bosque de encino	Bosque de pino encino	Bosque de encino secundario	Selva baja caducifolia	Bosque de pino encino

### *Desecación por temperatura*

Mediante un experimento factorial 3X4 (especie x tiempo de desecación), bajo una distribución completamente al azar, para cada especie se crearon 15 lotes de 400 semillas cada uno. Cada lote de semillas se coló en un pomadero de plástico con tapa perforada (para permitir la pérdida de humedad de las semillas). Para inducir la pérdida de humedad los pomaderos fueron colocados en una estufa de secado a 60 °C, durante cuatro días consecutivos. Cada 24 horas se retiraban tres repeticiones, las cuales eran pesadas con una balanza analítica Scientech @, y mediante la fórmula de  $(\text{peso fresco} - \text{peso seco}) / (\text{peso fresco}) * 100$  se determinó el porcentaje de humedad de cada lote.

Debido al desfase en la colecta de semillas, el experimento se realizó en dos experimentos independientes con tres especies cada uno. En el primero se evaluaron las semillas de *T. carlos-bankii*, *T. prodigiosa*, *T. bourgaei*, en abril de 2010. El segundo se inició en agosto del mismo año con las semillas de: *T. violacea*, *T. makoyana*, y *T. fasciculata*.

### *Prueba de germinación*

Para evaluar el porcentaje inicial de las semillas utilizadas en el experimento se realizó un experimento de germinación en el cual se crearon para cada especie 3 lotes de 400 semillas cada uno. Cada lote se colocó en una caja petri de vidrio esterilizado, como sustrato contenían papel filtro, humedecido con 4 ml de agua destilada. La germinación se hizo en una cámara de germinación con fotoperiodo neutro (12 horas luz), a temperatura constante de 25 °C. Una vez germinadas las primeras semillas, se contabilizó diariamente el número de semillas germinadas (elongación del hipocótilo visible a simple vista) hasta obtener la máxima germinación y con ello estimar el porcentaje.

Para evaluar el efecto de la desecación en la germinación de las semillas, cada uno de los lotes utilizados en la prueba de desecación se pusieron a germinar en las mismas condiciones utilizadas al evaluar la germinación inicial.

Con el fin de evaluar las diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de humedad y porcentaje de germinación entre las especies, en cada experimento se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y cuando se detectaron diferencias significativas entre especies, tiempo de exposición a 60°C y la interacción especie tiempo de exposición se hizo una prueba de comparación múltiple por el método de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). También se hizo un análisis de correlación simple de Pearson para evaluar la relación entre pérdida de humedad y decrecimiento de la capacidad germinativa, con el paquete estadístico SPSS (11.0 para Windows).

## Resultados

### *Contenido de humedad.*

Las especies evaluadas presentaron variación en el contenido de humedad. Las especies evaluadas en abril de 2010 (*Tillandsia prodigiosa*, *T. carlos-bankii*, *T. bourgaei*) presentaron porcentajes de humedad más bajos que las especies evaluadas en agosto de ese mismo año (*T. makoyana*, *T. fasciculata* y *T. violacea*) (Tabla 2). Se presentaron diferencias estadísticamente significativas en los porcentajes de humedad de las especies evaluadas, así como también se encontraron diferencias significativas en los porcentajes de humedad de los diferentes periodos de evaluación (Tabla 3). El efecto de la desecación controlada en las especies mostró diferencias significativas: *Tillandsia prodigiosa*, *T. carlos-bankii* y *T. bourgaei* mostraron los menores porcentajes de humedad (< 4.5%) difiriendo significativamente de *T. makoyana*, *T. violacea* y *T. fasciculata* que presentaron los mayores porcentajes de humedad  $\approx 8\%$  (Tabla 3).

Tabla 2. Análisis de varianza de las variaciones en contenido de humedad de semillas de *Tillandsia* por efecto de la desecación controlada a 60°C.

FV	gl	SC	CM	F	Sig.
Efectos principales					
Especie	5	351.43	70.29	325.87	<0.001
Tiempo de exposición	3	74.10	24.70	114.52	<0.001
interacción					
Especie * Tiempo de exposición	15	6.56	0.44	2.03	0.03
Error	48	10.35	0.22		
Total	72	14,486.00			

C.V 3.32 %

Tabla 3. Comparación del contenido de humedad en las semillas de seis especies de *Tillandsia*.

Especie	Promedio $\pm$ DE*
<i>T. prodigiosa</i>	4.2 $\pm$ 0.9 a **
<i>T. carlos-bankii</i>	4.5 $\pm$ 0.8 a
<i>T. bourgaei</i>	4.1 $\pm$ 1.0 a
<i>T. fasciculata</i>	8.1 $\pm$ 0.9 b
<i>T. makoyana</i>	7.8 $\pm$ 1.0 b
<i>T. violacea</i>	8.1 $\pm$ 0.9 b

\* DE, desviación estándar; \*\* en columna , los porcentajes seguidos de letras iguales no difieren significativamente ( Tukey,  $P \leq 0.05$ )

El efecto de la desecación controlada en el contenido de humedad afectó de manera significativa a las semillas en los diferentes periodos de evaluación, a menor tiempo de exposición mayor contenido de humedad (Tabla 4). Las especies en promedio disminuyeron a porcentajes de 5.2 %.

Tabla 4. Comparación de la variación en el contenido de humedad en las semillas de *Tillandsia* sometidas a diferentes tiempos de exposición a 60°C.

Tiempo (horas)	Promedio $\pm$ DE*
24	7.5 $\pm$ 1.9 a **
48	6.2 $\pm$ 1.9 b
72	5.7 $\pm$ 2.1 c
120	5.2 $\pm$ 1.9 d

\* DE, desviación estándar; \*\* en columna , los porcentajes seguidos de letras iguales no difieren significativamente ( Tukey,  $P \leq 0.05$ )

En la interacción de las especies sometidas a diferentes periodos de exposición a temperatura constante de 60° C el contenido de humedad presentó diferencias significativas. En las especies evaluadas en el mes de agosto se presentaron los más altos porcentajes de humedad (*T. fasciculata*, *T. makoyana*, *T. violacea*) y sólo a 120 horas de exposición la pérdida de humedad fue significativamente diferente. Las especies evaluadas en abril (*T. prodigiosa*, *T. carlos-bankii*, *T. violacea*) presentaron los menores porcentajes de humedad, presentando una reducción significativamente diferente a las 72 horas de exposición a 60° C (Tabla 5).

Tabla 5. Comparación del contenido de humedad en la semilla de seis especies de *Tillandsia* y su interacción con los tiempos de exposición a 60° C.

Tiempo de exposición a 60°C (Horas)	Especies evaluadas					
	<i>T. prodigiosa</i>	<i>T. carlos -bankii</i>	<i>T. bourgaci</i>	<i>T. fasciculata</i>	<i>T. makoyana</i>	<i>T. violacea</i>
24	5.4 c	5.8 c	5.7 c	9.5 a	9.3 a	9.2 a
48	4.7 c	4.4 c	4.0 d	8.1 a	7.5 a	8.1 a
72	3.3 d	4.2 d	3.5 d	7.9 a	7.4 a	7.9 a
120	3.3 d	3.5 d	3.3 d	6.9 b	6.9 b	7.0 b

La desecación controlada a 60°C en la germinación de las seis especies evaluadas afectó significativamente la capacidad germinativa de las especies evaluadas. Se presentaron diferencias significativas en los porcentajes de germinación de las especies evaluadas, así como también se encontraron diferencias significativas en los porcentajes de germinación en los diferentes periodos de evaluación (Tabla 6). La desecación controlada afectó significativamente la capacidad germinativa de las especies, en menor proporción las semillas de *T. makoyana* ya que fue la especie que al final del

periodo de evaluación mantuvo alto porcentaje de germinación (79.1%), siguiendo en orden descendente *Tillandsia prodigiosa*, *T. carlos-bankii*, *T. fasciculata* y *T. bourgaei*. *T. violacea* presentó mayor sensibilidad a la desecación con un porcentaje de (39.5%) (Tabla 7).

Tabla 6. Análisis de varianza del porcentaje de germinación de semillas de *Tillandsia* sometidas a desecación controlada a 60°C.

FV	gl	SC	CM	F	P
Efectos principales					
Especie	5	2197.956	439.591	24.307	<0.001
Tiempo de exposición	4	1920.093	480.023	26.542	<0.001
interacción					
Especie * Tiempo de exposición	20	694.099	34.705	1.919	.027
Error	60	1085.120	18.085		
Total	90	165305.004			

C.V 11.43

De las seis especies evaluadas *T. makoyana* presentó la mayor tolerancia a la desecación, ya que a pesar de que el contenido de humedad disminuyó (7%) en 120 horas de exposición a 60° C, no hubo una pérdida de germinación considerable (71%).

Tabla 7. Comparación del porcentaje de germinación de la semilla de seis especies de *Tillandsia*.

Especie	Promedio $\pm$ DE *
<i>T. prodigiosa</i>	63.5 $\pm$ 18.9 b **
<i>T. carlos-bankii</i>	53.3 $\pm$ 16.6 bc
<i>T. bourgaei</i>	47.7 $\pm$ 11.5 cd
<i>T. fasciculata</i>	52.7 $\pm$ 11.9 bc
<i>T. makoyana</i>	79.1 $\pm$ 4.2 a
<i>T. violacea</i>	39.5 $\pm$ 18.5 d

\* DE, desviación estándar; \*\* en columna, los porcentajes seguidos de letras iguales no difieren significativamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

En la comparación de la germinación de semillas de *Tillandsia* a diferentes periodos de exposición a 60° C, para las seis especies en promedio, la capacidad germinativa fue mayor para las semillas al inicio de la prueba, de las semillas sometidas a desecación constante a las 24 horas no se presentaron diferencias significativas, a las 48 horas de exposición se disminuyó significativamente la germinación al igual que a las 72 y 120 horas de desecación constante (Tabla 8).

Tabla 8. Comparación de la germinación de semillas de *Tillandsia* a diferentes tiempos de exposición constante a 60° C.

Tiempo (horas)	Promedio $\pm$ DVS
0	72.1 $\pm$ 8.7 a **
24	64.7 $\pm$ 13.1 ab
48	55.0 $\pm$ 16.7 b
72	44.9 $\pm$ 18.9 c
120	43.1 $\pm$ 17.7 c

\* DE, desviación estándar; \*\* en columna, los porcentajes seguidos de letras iguales no difieren significativamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

La comparación del porcentaje de germinación de la semilla de seis especies de *Tillandsia* y su interacción con los tiempos de exposición a 60° C, mostró la mayor pérdida de germinación al mayor tiempo de exposición de las semillas. A pesar de que el porcentaje de germinación disminuyó, este decremento se presentó de manera gradual para las seis especies. De las seis especies evaluadas *Tillandsia makoyana* presentó la mayor tolerancia a la desecación ya que en a 120 horas de exposición a 60 °C, no se presentaron diferencias significativas en su capacidad germinativa. *Tillandsia violacea* mostró mayor sensibilidad a la desecación al presentar 19.3% de germinación a las 72 horas de desecación, sin embargo este porcentaje no fue consistente en la prueba ya que a las 120 horas de exposición el porcentaje incrementó a 29.7% (Tabla 9).

Tabla 9. Comparación del porcentaje de germinación de la semilla de seis especies de *Tillandsia* y su interacción con los tiempos de exposición a 60° C.

Tiempo de exposición a 60° C (Horas)	Especies evaluadas					
	<i>T.prodigiosa</i>	<i>T. carlos -bankii</i>	<i>T.bourgaei</i>	<i>T.fasciculata</i>	<i>T.makoyana</i>	<i>T.violacea</i>
0	78.0 a	76.5 a	61.0 a	67.0 a	84.0 a	66.3 a
24	77.8 a	60.3 b	53.6 b	64.0 a	82.7 a	49.7 b
48	74.5 a	56.0 b	50.5 b	42.7 b	73.7 a	32.7 b
72	46.3 b	39.4 b	38.9 b	48.0 b	77.3 a	19.3 c
120	40.7 b	35.5 b	32.5 b	42.0 b	78.0 a	29.7 c

El análisis de correlación mostró que bajo una condición de desecación controlada a 60°C, en cinco de las seis especies evaluadas existió una correlación significativa en el contenido de humedad y el porcentaje de germinación de las semillas de: *Tillandsia prodigiosa* ( $r= 0.67$ ;  $P= 0.016$ ), *T. carlos-bankii* ( $r= 0.68$ ;  $P= 0.015$ ), *T. bourgaei* ( $r= 0.69$ ;  $P= 0.013$ ), *T. fasciculata* ( $r= 0.58$ ;  $P= 0.045$ ) y *T. violacea* ( $r= 0.57$ ;  $P= 0.050$ ). Sólo para *Tillandia makoyana* la correlación no fue significativa ( $r= 0.42$ ;  $P= 0.169$ ), es decir que bajo las condiciones evaluadas la germinación de las semillas no se afecta por la disminución del contenido de humedad.

## Discusión

Las semillas de las seis especies evaluadas presentaron un comportamiento similar al experimentar el proceso de desecación a 60° C, presentaron una mayor pérdida de germinación en los mayores tiempos de exposición a la temperatura, sin embargo se presentó una variación en la tolerancia a la desecación controlada en las especies evaluadas; *Tillandsia makoyana* presentó la mayor tolerancia a la prueba, lo cual indica que es la especie con mayor tolerancia a la desecación y con un alto potencial fisiológico, esto se corroboró con la prueba de correlación de pearson ya que es la especie que no mostró relación positiva en la pérdida de humedad y la pérdida de germinación. A pesar de que *T. prodigiosa*, *T. carlos-bankii*, *T. bourgaei*, *T. carlos-bankii* y *T. fasciculata* mostraron menor tolerancia a esta condición de exposición, el porcentaje de germinación se mantuvo por arriba de 32% (Tabla 9). Debido a que las semillas de las especies que mantuvieron porcentajes de germinación mayores al 30% a contenidos de humedad de 6.9% a 3.3%, se puede decir que en almacenamiento su comportamiento sea tipo ortodoxo. Dado el tipo de frutos secos dehiscentes de *Tillandsia* específicamente de las especies epifitas, que contienen semillas pequeñas, anemócoras con poco endospermo y poca capacidad de retención de humedad, dicho comportamiento es esperable como lo menciona Smith (2007); Angelovici *et al.*, (2010). Otro factor importante que corrobora este supuesto es la época de liberación de las semillas, el cual se da en época seca. Gold *et al.* (2004) mencionan que especies que liberan sus semillas durante la época de secas probablemente se comporten como ortodoxas.

Si bien las especies evaluadas presentan comportamiento de almacenamiento ortodoxo, *T. makoyana* es la especie que presenta mayor tolerancia a la desecación, esta diferencia, puede ser atribuida a características intrínsecas de la planta y condiciones ambientales donde las semillas se desarrolla, el sitio de proveniencia de las semillas de *Tillandsia makoyana* es uno de los sitios más secos de la zona

de estudio, la posición que tienen estas especies en los hospederos es en la zona más expuesta del dosel, donde hay una mayor radiación solar, por tanto están sometidas a fuertes presiones por estrés hídrico y se sabe que bajo condiciones de estrés la planta madre puede producir semillas con un mayor grado de ortodoxia (Magnitskiy y Plaza, 2007). Si bien *Tillandsia fasciculata* se encuentra en hábitats muy similares a *Tillandsia makoyana* el comportamiento de las semillas no fue similar; esto pudiera deberse a la colecta realizada de *T. fasciculata* la cual se realizó en época de lluvias, lo que probablemente afectó la viabilidad de las mismas como lo menciona Bewley y Black (1994) que semillas colectadas en condiciones de alta humedad y semillas colectas inmaduras son más propensas a sufrir daños irreversibles. Aunque otro aspecto importante a considerar es que no todas las especies se comportan fisiológicamente de la misma forma, porque responden de manera diferente a los factores ambientales (Hong y Ellis, 1996).

Es importante señalar que el grado de tolerancia a la desecación está fuertemente influenciado por la calidad de las semillas evaluadas, las semillas de *Tillandsia violacea* y *T. fasciculata*, en la prueba de calidad por rayos X realizada para evaluar la calidad física de las semillas, mostraron un mayor contenido de semillas semidesarrolladas y vanas en comparación con el resto de las especies evaluadas, esta diferencia en germinación entonces puede ser adjudicado a la mala calidad de las semillas y no a la intolerancia a la desecación.

A pesar de varias de las especies evaluadas provienen de sitios con condiciones ambientales diferentes (Tabla 1), presentaron un patrón de conducta similar en su tolerancia a la desecación, lo que pudiera deberse a que en el ambiente epífita donde habitan todas ellas se caracteriza por cambios bruscos de humedad y temperatura a demás de baja disponibilidad de nutrimentos (Benzing 1990), dichas condiciones parecen estar favoreciendo que todas las especies de tillandsias epífitas presenten

altas tolerancias a la desecación, la cual ha favorecido su permanencia, predominancia dentro del ámbito epífita.

## **Conclusión**

La primera etapa en el desarrollo de una estrategia de conservación ex situ para una especie de planta en particular es determinar el comportamiento de almacenamiento de las semillas. Schdmith (2000) menciona que el comportamiento de almacenamiento es heredable, especies y algunas veces géneros típicamente muestran un comportamiento de almacenamiento heredado, dada esta premisa pudiera decirse que especies del género *Tillandsia* provenientes de sitios con características ambientales semejantes a las evaluadas en este estudio presentan tolerancia a la desecación, catalogándose como comportamiento ortodoxo lo que permite su almacenamiento bajo condiciones de temperatura controladas, a largo plazo. Sin embargo para determinar el grado de tolerancia a la desecación es recomendable evaluar diferentes lotes, de diferentes sitios de proveniencia debido a la heterogeneidad de las especies (Hong y Ellis, 1996).

## Literatura citada.

- Angelovici, R., Galili G., Fernie A.R. y A. Fait. 2010. Seed desiccation: a bridge between maturation and germination. *Revista Trends in Plant Science*. 15: 211-218.
- Bewley, J.D., Black M. 1994 *Seeds: physiology of development and germination*. Second edition. Plenum Press. New York
- Ellis R.H., Hong T.D., Roberts E.H., 1990. An intermediate category of seed behaviour? 1. Coffee. *Journal of Experimental Botany* 41, 1167-1174
- Ellis R.H., Hong T.D. y E.H. Roberts 1991<sup>1</sup>. An intermediate category of seed behavior: Effects of provenance, immaturity and imbibitions on desiccation tolerance in coffee. *Journal of Experimental Botany* 42: 653-657.
- Ellis R.H., Hong T.D., Roberts E.H., y U. Soetisna. 1991<sup>2</sup>. Seed storage behavior in *Elaeis guineensis*. *Seed Research* 1: 99-104.
- Farnworth, E. 2000. The ecology and physiology of viviparous and recalcitrant seeds. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 31: 107-138.
- Gold, K.; P. León-Lobos. y M. Way 2004. Manual de recolección de semillas de plantas silvestres para conservación a largo plazo y restauración ecológica. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Intihuasi, La Serena, Chile. Boletín INIA N° 110. 62 pp.
- Hay, F.R Y Probert, R.J. 1995. Seed maturity and the effects of different drying conditions on tolerance desiccation and seed longevity on Floxglove (*Digitalis purpurea* L. ) *Annals of Botany* 76: 639-647.
- Hay, F.R Y Probert, R.J. y Coomber, S.A. 1997. Development of desiccation tolerance and longevity in seeds from detached capsules of Floxglove (*Digitalis purpurea* L. ) *Seed Science Research* 7: 341-349.
- Hay, F.R y Smith, R.D. 2004. Seed maturity: when to collect seeds from wild plant. En Smith R.D, Dickie J.B., Linington S.H., Pritchard H.W., Probert R. J. eds. *Seed conservation: turning science into practice*. London Royal, Botanical Garden. Kew, 97-133 Pp.
- Hay, F.R y Smith, R.D. 2004. Seed maturity: when to collect seeds from wild plant. En Smith R.D, Dickie J.B., Linington S.H., Pritchard H.W., Probert R. J. eds. *Seed conservation: turning science into practice*. London Royal, Botanical Garden. Kew, 97-133 Pp.

- Hong, T. D. y Ellis, R. H. 1991. A comparison of maturation drying , germination and desiccation tolerance between developing seeds of *Acer pseudoplatanus* L. and *Acer platanoides* L. *New Phytologist* 116: 589-596
- Hong T.D y R.H Ellis, 1996. A protocol to determine seed storage behaviour. IPGRI Technical Bulletin No. 1. International Plant Genetic Resources Institute, Roma.
- Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática, (INEGI) 1998. Carta topográfica Oaxaca E 14-9 escala 1: 250 000
- Leprince. O. 2004. Assessing desiccation sensitivity: from diagnosis to prognosis. En Smith R.D, Dickie J.B., Linington S.H., Pritchard H.W., Probert R. J. eds. *Seed conservation: turning science into practice*. London Royal, Botanical Garden. Kew, 399-414. Pp.
- Mondragón, D. y D. Villa 2008. Estudio etnobotánico de las bromelias epífitas en la comunidad de Sta. Catarina Ixtepeji. *Polibotánica* 26: 175-191.
- Mondragón, D. 2009 Aspectos Etnobotánicos de la comercialización de bromelias epífitas en Oaxaca. *Revista de Etnobiología*. 6:24-28.
- Pammenter, N. W., y P. Berjak. 2000. Dormancy and ecological aspects of recalcitrant seed biology. *Seed Science Research* 10: 301-301.
- Pritchard H.W., Daws M.I, Fletcher B. J., Gaméné C.S, Msanga H.P. y W. Omondi. 2004. *American Journal of Botany*. 91(6) 863-870.
- Probert, R. J. y Hay, F.R. 2000. Keeping seeds alive. In Black y J.D. Bewley. Ed. *Seed technology and its biological basis*. Sheffield Academic Press, Sheffield, UK. 375-410 Pp.
- Rao, N. K., J. Hanson, M.E Dulloo., K. Ghosh., D. Nowell y M. Larinde. 2007. Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma. Manual bancos de germoplasma No.8. 165pp.
- Schmidt, L. 2000. Guide to Handling of Tropical and Subtropical Forest Seed. Danida Forest Seed Centre. 1-37 pp.
- Schmidt, L., 2007. Tropical Forestry. Tropical Forest Seed. 978p.
- Tarré, E., B.B. Mendes-Pires, A.P. Macano-Guimaraes, L. Alves-Carneiro, R. Campotrini-Forzza and E. Mansur. 2007. Germinability after desiccation, storage and cryopreservation of seeds from endemic *Encholirium* Mart. Ex Schult. & Schult. F. and *Dyckia* Schult. &Schult. F. species (Bromeliaceae). *Acta Bot. Brasil*. 21: 777-783.
- Tweddle J.C., Dickie J.B., Baskin C.C y J.M Baskin. 2003. Ecological aspect of seed desiccation sensitivity. *Journal of Ecology* 91: 294-304.

WWF y IUCN. 1997. Centres of Plant Diversity. A guide and for their conservation. Vol. 3. The Americas. IUCN Publication Unit, Cambridge, U.K. 562p.

Zacarías-Eslava, Y. 2009. Composición y estructura del bosque templado de Santa Catarina ixtepeji , Oaxaca, a lo largo de un gradiente altitudinal. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. México. 61 p.

Zar, J. H. 1999. Biostatistical Analysis. Prentice Hall. United States of America. 273-280 p.

## CAPITULO III

# EFFECTO DE LAS CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO EN LA CAPACIDAD GERMINATIVA DE SEMILLAS DE *Tillandsia* L. (Bromeliaceae)

Diana Sosa-Luría<sup>1</sup>, Porfirio Ramírez Vallejo<sup>2</sup>, Julio Arturo Estrada Gómez<sup>2</sup>, José Luis  
Chavez-Servia<sup>1</sup>, Demetria Mondragón Chaparro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional-Instituto Politécnico Nacional Unidad Oaxaca. Hornos # 1003. Santa Cruz Xoxocotlán. 71230. Oaxaca. México. <sup>2</sup> Posgrado en Recursos Genéticos y Productividad. *Campus* Montecillo. Colegio de Postgraduados.

### Introducción.

La familia Bromeliaceae Juss. se distribuye en la zona Neotropical, la conforman 56 géneros y contiene alrededor de 3172 especies (Luther, 2008). En México *Tillandsia* L. es el género de bromelias más abundante con 192 especies, siendo el centro de diversidad la zona centro y sur del país. Oaxaca, estado del sureste, forma parte de la ecorregión prioritaria Mesoamericana de plantas vasculares endémicas (Myers *et al.*, 2000) ocupa el primer lugar en México con el mayor número de especies de *Tillandsia* (82), de las cuales 22 son endémicas del estado (Espejo *et al.*, 2004; Espejo *et al.*, 2007). Gran parte de estas especies se distribuyen en la Sierra Juárez (29.2 %), zona incluida dentro

de las regiones prioritarias para la conservación y considerada dentro de los centros de diversidad de plantas (WWF y IUCN, 1997).

Dentro de esta zona, las especies de *Tillandsia* son ampliamente utilizadas, debido a la belleza de las plantas, ya que el género se caracteriza por brácteas y escapo floral con inflorescencias de colores llamativos. Debido a esto tienen una alta demanda comercial en los mercados regionales, lo que provoca fuertes presiones por la extracción ilegal de poblaciones silvestres (Bennett, 2000; Wolf y Konings, 2001; Mondragón y Villa, 2008; Mondragón 2009), lo cual aunado con las altas tasas de deforestación (Gordon *et al.*, 2003) y cambio de uso de suelo (Gentry, 1992); han puesto en peligro de extinción a varias de ellas (PROFEPA, 2000; NOM-O59-2002; NOM-059-2010) razón por la que es importante formular estrategias y acciones de conservación.

El almacenamiento de semillas en bancos de germoplasma es una medida complementaria a la conservación *in situ* y representa una medida de conservación *ex situ* de especies amenazadas o en peligro de extinción, así como el resguardo de la diversidad genética de especies silvestres (Gold *et al.*, 2004; Li y Pritchard, 2009). Mediante este método es posible mantener la viabilidad de las semillas por periodos prolongados de tiempo, dependiendo del tipo de semilla y de las condiciones de almacenamiento (Hong y Ellis, 1996; García 2000; Li y Pritchard, 2009).

De manera intrínseca las semillas son capaces, en la mayoría de los casos, de permanecer viables durante ciertos períodos tiempo (Fenner y Thompson, 2005), en función de diversos factores como: la permeabilidad de la cubierta de la semilla, latencia y fisiología de la semilla, el grado de resistencia al deterioro ambiental, entre otros (Hong y Ellis, 1990; Rajjou y Debeaujon, 2008). Inexorablemente, las semillas, al igual que todo ser vivo, está sujeto a un envejecimiento, el cual incide en un

decremento en la viabilidad y finalmente en la pérdida total de la capacidad germinativa de las mismas. Durante el almacenamiento de semillas para su conservación se trata de minimizar el proceso natural de deterioro (Bewley y Black, 1994).

El periodo que las semillas pueden permanecer viables en almacenamiento está determinado principalmente por: 1) factores genéticos, que pueden ser directamente relacionados con el envejecimiento progresivo, o indirectamente con la susceptibilidad a diferentes factores, que en última instancia puede conducir a la pérdida de la viabilidad 2) al potencial de almacenamiento (ortodoxo, recalcitrante o intermedio) es decir la longitud de tiempo que las semillas de una especie en particular pueda sobrevivir bajo ciertas condiciones de almacenamiento y 3) eventos de deterioro o daño previo y durante el almacenamiento, así como por la interacción entre estos factores (Schmidt, 2000; Rajjou y Debeaujon, 2008).

Las condiciones de almacenamiento que mantienen la viabilidad de las semillas son aquellas que reducen la respiración y otros procesos metabólicos sin dañar el embrión, así como la prevención de proliferación de agentes patógenos como hongos o bacterias que puedan dañar a la semilla (Bewley y Black, 1994). Se ha observado que, el contenido de humedad de la semilla y la temperatura de almacenamiento determinan la duración del almacenamiento, el contenido de humedad inicial debe mantenerse en equilibrio con la humedad relativa del ambiente en el que se almacenan (Humphreys y Riveros, 1986), ya que debido a que las fluctuaciones de la humedad de las semillas reducen su longevidad, además de que se aumenta la tasa respiratoria, lo que provoca que las reservas de las semillas destinadas a alimentar al embrión durante la germinación sean consumidas mediante respiración al aumentar el metabolismo, lo que va reduciendo la calidad de las semillas (Bewley y Black, 1994). Las bajas temperaturas prolongan el periodo de sobrevivencia de las semillas, debido a

que se reduce su metabolismo y se inhibe el desarrollo de insectos, hongos, bacterias u otros agentes que las dañen. Las temperaturas de almacenamiento se encuentran, en general, entre 0 y 10 °C. Sólo si el contenido de humedad es muy reducido, la temperatura puede bajar de cero grados, sin producir rompimiento de tejidos (Harrington, 1972; Bewley y Black, 1994).

Para semillas de bromelias, se ha generado poca información sobre los factores determinantes en la viabilidad de las semillas en condiciones de almacenamiento: Hartmann (1981) evaluó la viabilidad de semillas de *P. raimondii*, reportó 90% de germinación, manteniendo su poder germinativo por seis meses, mientras que Rivera( 1985) reportó 99% de germinación para *P. raimondii* sin pérdida de viabilidad en 1 año de almacenamiento, Tarré et al.,(2007) estudiaron el almacenamiento a bajas temperaturas y criopreservación de semillas de seis especies de *Encholirium* y dos especies de *Dyckia*, reportó la preservación de viabilidad durante un año de almacenamiento a 4 y -20°C. Pereira *et al.*, (2010) reportaron el mayor porcentaje de germinación (91%) de semillas de *Nidularium innocentii* almacenadas a 4°C, en un periodo de tres meses de almacenamiento. A pesar del incremento en los estudios recientes sobre germinación, viabilidad y factores que inciden en la longevidad de las semillas de bromelias, falta documentar más del 95% de las especies conocidas, por ello en el presente trabajo fueron seleccionadas seis especies de *Tillandsia* presentes en el área comunal de Santa Catarina Ixtepeji, Sierra Norte de Oaxaca, reportadas con algún tipo de uso, y que se ha documentado su extracción de los bosques para comercializarlas, cuatro de estas especies son endémicas al país (*Tillandsia bourgaei*, *T. violacea*, *T. prodigiosa*, *T. makoyana* ) una más endémica de Oaxaca (*Tillandsia carlos-bankii*) reportada en la categoría de amenazada NOM-059-ECOL-2002-2010 y una especie de amplia distribución (*Tillandsia fasciculata*). Con el objetivo de evaluar el efecto de la temperatura en la capacidad germinativa de las semillas durante un año de almacenamiento con fin de explorar las posibilidades de la conservación ex situ de especies del género *Tillandsia*.

## Materiales y métodos

### *Colecta de semillas*

De febrero a junio de 2010, se realizó una colecta de semillas, se eligió una población de las siguientes especies: *Tillandsia carlos-bankii*, *T. prodigiosa*, *T. bourgaei*, *T. violacea*, *T. makoyana* y *T. fasciculata* (Tabla 1), en los bosque templados de Santa Catarina Ixtepeji, Sierra Norte de Oaxaca, México, ubicado entre los 96° 36' Y 96° 39' LO y entre los 17° 09' y 17° 11' LN. El clima varía de semicálido-subhúmedo con lluvias en verano a semifrío-subhúmedo con lluvias en verano, presenta una isoterma media anual que oscila entre los 11 y 16 ° C. El rango de la precipitación media anual es de 600 a 1300 mm (INEGI, 1998). La comunidad vegetal está compuesta principalmente de bosques de pino (3100 m), encinares y bosque de pino-encino (2200 m y 2900 m), encinar arbustivo (en las zonas de menor altitud) (Zacariás-Eslava, 2009).

Descriptor general	Especie de <i>Tillandsia</i> *					
	carlos-bankii	makoyana	prodigiosa	bourgaei	fasciculata	violacea
Hábitat o vegetación asociada	Pino-encino (1900-2900 msnm)	encino (50-2320 msnm)	Pino-encino (1800-2800 msnm)	Encino-pino (600-3100 msnm)	bosque de encino y selvas bajas (1500-2000 msnm)	encino- pino, mesófilo de montaña, pino- encino (600-3100 msnm)
Distribución	Endémica de Oaxaca	Endémica de México: noreste a sureste	Endémica de México: sureste	Endémica de México	Noreste, Centro y sureste de México	Centro y sureste de México
Características de la inflorescencia	Cilíndrica de 57-70 cm de largo, corola verde	inflorescencia erecta paniculada de hasta 1 m, flores violetas	Tipo péndula, bipinnada, subcilíndrica de 30-60 cm de longitud, corola verde cremoso	Erecta, cilíndrica de 26 a 30 cm, corola verde o amarillo verduzco	Usualmente paniculada, 25 a 60 cm de largo, corola violeta, raramente blancos	Inflorescencia colgante 15 a 35 cm de largo, corola tubular violeta

Flores por eje floral (aprox.)	70	25	30	30	8	10
Semillas por cápsula (aprox.)	200-250	80-100	180-200	200-250	80-120	200-250
Tipo de semilla	Apéndices plumosos	Apéndices plumoso	Apéndices plumosos	Apéndices plumosos	Apéndices plumosos	Apéndices plumosos
Dispersión de las semillas	Anemócora	Anemócora	Anemócora	Anemócora	Anemócora	Anemócora
Época de dispersión local de semillas	Noviembre-abril	Noviembre-abril	Noviembre-marzo	Marzo-mayo	Mayo-julio	Marzo-junio
Localización en Sta. Catarina Ixtepeji	El punto, Petenera, El Cerezo, Reinoso, Santa Catarina, Tierra Colorada y El Cerezal	Xia, Puente de Fierro, Peñasquera, Banco de Cantera	El punto, Petenera, El Cerezo, Reinoso, Santa Catarina, Vivero, Tierra Colorada y El Cerezal	El Punto, Petenera, El Cerezal, Reinoso y Santa Catarina	Xia y Puente de Fierro	Petenera y Peña Prieta
Lugar de colecta	Petenera	Xia	Vivero	El cerezal	Xia	Peña Prieta
Fecha de colecta	20/02/2010	07/03/2010	08/03/2010	09/03/2010	03/03/10 y 19/07/10	20/02/10 y 27/06/10
Tipo de vegetación	Bosque de pino encino	bosque de encino	Bosque de pino encino	Bosque de encino secundario	Selva baja caducifolia	Bosque de pino encino

\*Fuentes: Smith y Downs (1874), Espejo-Serna (2004) y Espejo-Serna *et al.* (2004), Mondragón *et al.* (2008), (Mondragón, 2010) y datos generados durante la colecta de semillas.

En cada población, en un radio de 50 a 500 m, en función de la abundancia de la especie, se seleccionaron aleatoriamente 50 individuos en etapa reproductiva ubicados en forofitos diferentes para evitar colectar genotipos emparentados. De cada individuo se colectó una capsula de la parte basal, media y apical, por tanto se colectaron de tres a cuatro cápsulas de 50 bromelias por población muestreada. Se realizó la colecta cuando en la población se observó que algunos individuos tenían cápsulas abiertas liberando semillas. Las cápsulas colectadas estaban cerradas, secas y de textura

externa dura (indicador de semillas maduras) y con ello se evitó coleccionar semillas de otros individuos o semillas dañadas o contaminadas por hongos patógenos. En el caso de *T. fasciculata* y *T. violacea*, en algunos individuos se coleccionaron semillas en proceso de dispersión debido a la poca disponibilidad de cápsulas cerradas en las poblaciones muestreadas. Las semillas coleccionadas se sometieron a secado lento por un periodo de 4 semanas en bolsas de papel, a la sombra en un lugar seco, fresco y ventilado para evitar el desarrollo de hongos. Durante ese periodo se presentó la dehiscencia de las cápsulas y la liberación de semillas.

#### *Almacenamiento de semillas*

De las semillas coleccionadas de cada especie, se crearon 80 lotes. El lote experimental o unidad experimental se constituye de 100 semillas para *Tillandsia bourgaei*, *T. prodigiosa*, *T. carlos-bankii*, *T. makoyana* y de 50 para *T. violacea* y *T. fasciculata* esto último debido a la poca disponibilidad de semillas de estas especies. Cada lote fue colocado en frascos de vidrio de 20 ml, color ámbar con sello hermético para su almacenamiento. La prueba se realizó en dos fases, en abril y junio de 2010, de acuerdo a los periodos de colecta de semillas. Bajo un diseño factorial 3 x 4 x 4 (tres especies x cuatro temperaturas de almacenamiento x cuatro periodos de almacenamiento) en serie con distribución completamente al azar con cuatro repeticiones por combinación de tratamiento (temperatura ambiente, 10 °C, -20 °C, 0 °C y 3, 6, 9 y 12 meses de almacenamiento). El tratamiento testigo (temperatura ambiente) se colocó en una zona ventilada con temperaturas promedio de, con una mínima de 14.7 °C y una máxima de 28.4 °C con humedades relativas promedio de 54.2%. El almacenamiento a 10°C, 0°C y -20°C se llevó a cabo en refrigeradores convencionales Mabe® donde se mantuvieron las temperaturas constantes. Los factores estudiados y sus correspondientes niveles se detallan en la tabla 2.

Tabla 2. Factores evaluados y sus respectivos niveles

Factores	Niveles
Especie	<i>T. prodigiosa</i> <i>T. carlos-bankii</i> <i>T. bourgaei</i> <i>T. fasciculata</i> <i>T. makoyana</i> <i>T. violacea</i>
Tiempo de almacenamiento	3 meses 6 meses 9 meses 12 meses
Temperatura de almacenamiento	ambiente 10 ° C 0 ° C -20 ° C

#### *Pruebas de germinación*

Las pruebas de germinación se realizaron en el laboratorio de semillas del Banco de Germoplasma de la Secretaría de Desarrollo Agropecuario, Forestal y Pesca del Gobierno del Estado de Oaxaca, México.

Se evaluó la capacidad germinativa de las semillas recién de cada especie mediante un diseño experimental completamente al azar con 12 repeticiones de 50 semillas por especie: *T. bourgaei*, *T. prodigiosa*, *T. carlos-bankii*, y *T. makoyana*. En el caso de *T. violacea*, y *T. fasciculata* (debido a la baja disponibilidad de semillas), se utilizó el mismo diseño y tamaño de muestra pero sólo con seis repeticiones. Cada lote o repetición se colocó en una caja petri de vidrio esterilizado, que contenía un papel filtro humedecido con 4 mL de agua destilada. La germinación se hizo en una cámara de germinación Light-Dark Seedburo® con fotoperiodo neutro (12 horas luz) y a temperatura constante de 25 °C. Una vez germinadas las primeras semillas, cada 24 horas se contabilizó el número de semillas germinadas (elongación del hipocótilo visible a simple vista) hasta obtener la máxima germinación, con la información recopilada se estimó el porcentaje, tasa de germinación y la tasa de germinación media (T50%).

La capacidad germinativa de los tratamientos de almacenamiento fue evaluada bajo el mismo procedimiento experimental de la germinación inicial, se realizaron 4 repeticiones de 100 semillas por especie: *T. bourgaei*, *T. prodigiosa*, *T. carlos-hankii*, y *T. makoyana* y de 4 repeticiones de 50 semillas de *T. violacea*, y *T. fasciculata* (debido a la baja disponibilidad de semillas). Se evaluó la capacidad germinativa de las semillas al inicio de almacenamiento y cada tres meses hasta completar 12 meses de almacenamiento de cada especie, con el fin de determinar el cambio en la capacidad germinativa a lo largo del tiempo y bajo las condiciones de almacenamiento.

#### *Análisis estadístico*

Con el fin de evaluar si existían diferencias estadísticamente significativas en la capacidad germinativa de las especies al inicio de almacenamiento, los datos en el porcentaje, fueron transformados por la expresión Arcoseno, con el fin de normalizar los datos (Zar, 1999) y posteriormente se les practicó un análisis de varianza (ANOVA). Cuando hubo diferencias significativas entre las especies evaluadas, se hizo una comparación múltiple de medias por la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). Los análisis se realizaron con apoyo del paquete estadístico SPSS (11.0 para Windows).

Para determinar si existían diferencias estadísticamente significativas en la capacidad germinativa entre las especies, tiempos de germinación, temperatura de almacenamiento y sus interacciones para el porcentaje de germinación; a los datos estandarizados por la expresión Arcoseno (Zar, 1999) se les practicó un análisis de varianza (ANOVA). Cuando hubo diferencias significativas entre los factores de variación se hizo una comparación múltiple de medias por la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). Los

análisis se realizaron con apoyo del paquete estadístico IBM SPSS Statistic (19.0 para Windows) y Statistical analysys system (SAS).

## Resultados

### *Capacidad germinativa de seis especies de Tillandsia al inicio de almacenamiento.*

La capacidad germinativa fue variable entre las seis especies de *Tillandsia*, *T. bourgaei* fue la especie que presentó el mayor porcentaje de germinación (83.3%), *T. makoyana*, *T. carlos-bankii* y *T. prodigiosa* presentaron porcentajes superiores a 75% y mientras que *T. violacea* presentó solo 15.16% (Tabla 1).

Las semillas que no germinaron presentaron contaminación por hongos.

Tabla 3. Porcentaje de germinación, tasa de germinación y tiempo medio de germinación (T50%) en semillas de seis especies de *Tillandsia*.

Especie	Germinación (%promedio $\pm$ SD)	Tasa de Germinación	T50%
<i>T. prodigiosa</i>	75.8 $\pm$ 5.07 b <sup>1</sup>	9.80 c	4.8 a
<i>T. carlos-bankii</i>	79.5 $\pm$ 6.61 ab	11.8 b c	3.0 b
<i>T. bourgaei</i>	83.3 $\pm$ 5.81 a	11.2 c	3.0 b
<i>T. fasciculata</i>	45.0 $\pm$ 7.2 c	14.0 b	---
<i>T. makoyana</i>	79.8 $\pm$ 9.1 ab	23.2 a	4.0 ab
<i>T. violacea</i>	15.2 $\pm$ 1.8 d	4.0 d	---

<sup>1</sup> En columna , los porcentajes seguidos de letras iguales no difieren significativamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

### *Efecto de las condiciones de almacenamiento*

El análisis de varianza mostró diferencias significativas en los factores principales, se presentaron diferencias significativas en la respuesta germinativa entre las especies evaluadas, al igual que en el efecto de tiempo y temperatura de almacenamiento, la interacción de la especie con el tiempo de almacenamiento tuvo diferencias significativas, al igual que la interacción de la especie con la temperatura y la interacción de tiempo con temperatura (Tabla 4).

El efecto del factor especie en la variable de respuesta germinación, mostró diferencias significativas durante el periodo de almacenamiento. *Tillandsia prodigiosa* y *T. bourgaei*, mostraron los mayores porcentajes de germinación (91.6%), siendo significativamente diferentes en la respuesta germinativa de *T. carlos-bankii*, *T. makoyana*, *T. violacea* y *T. fasciculata*, no obstante dado que estas dos últimas

especies presentaron los menores porcentajes de germinación, *T. violacea* (55.0%) difiere significativamente de *T. fasciculata* (13.9%) (Tabla 5).

Tabla 4. Significancia de los cuadrados medios del efecto de las condiciones de almacenamiento en *Tillandsia prodigiosa*, *T.carlos-bankii*, *T.bourgaei*, *T. fasciculata*, *T. makoyana*, *T. violacea*.

F.V	gl	SC	CM	F	P
especie	5	144807.870	2896.574	566.590	< 0.0001
Tiempo	3	1881.631	627.210	12.060	< 0.0001
temperatura	3	2459.075	819.692	15.760	< 0.0001
especie * Tiempo	15	4427.134	295.142	5.670	< 0.0001
especie * temperatura	15	3036.391	202.426	3.890	< 0.0001
Tiempo * temperatura	9	2942.157	326.906	6.280	< 0.0001
especie * Tiempo * temperatura	45	6847.234	156.161	2.920	< 0.0001
Error	336	15616.661	46.478		
Total	438	1582858.703			

Tabla 5. Efecto de la especie en la variable de germinación de semillas de *Tillandsia*.

Especie	n	Promedio ± SD
<i>T. prodigiosa</i>	64	91.6 ± 1.1 a *
<i>T. bourgaei</i>	64	91.6 ± 1.4 a
<i>T. carlos-bankii</i>	64	77.0 ± 2.7 b
<i>T. fasciculata</i>	64	13.9 ± 3.7 d
<i>T. makoyana</i>	64	81.5 ± 5.4 b
<i>T. violacea</i>	64	55.0 ± 16.9 c

\*En columna , los porcentajes seguidos de letras iguales no difieren significativamente ( Tukey, P≤ 0.05)

El efecto del factor Tiempo en la variable de germinación, también mostró diferencias significativas en los periodos de almacenamiento (Tabla 4), en los tres y nueve meses de almacenamiento se presentaron los más altos porcentajes de germinación en promedio para las seis especies, difiriendo significativamente de seis y doce meses de almacenamiento.

Tabla 6. Efecto del tiempo de almacenamiento en la variable de germinación de semillas de *Tillandsia prodigiosa*, *T.carlos-bankii*, *T.bourgaei*, *T. fasciculata*, *T. makoyana*, *T. violacea*.

Tiempo (meses)	n	Promedio
Tres	96	70.3 ± 30.9 a *
Seis	96	65.2 ± 28.0 b
Nueve	96	68.9 ± 30.0 a
Doce	96	66.5 ± 31.1 b

\*En columna, los porcentajes seguidos de letras iguales no difieren significativamente (Tukey, P ≤ 0.05)

El factor temperatura, afectó significativamente la capacidad germinativa de las especies evaluadas (Tabla 7). En cero grados centígrados se presentó la mayor capacidad germinativa promedio de las seis especies (71.7%), sin diferir significativamente de la capacidad germinativa mostrada en la condición de almacenamiento a diez grados centígrados y grados centígrados bajo cero, presentándose sólo diferencias significativas con el tratamiento testigo (temperatura ambiente 21.5 °C), donde se obtuvo el menor porcentaje de germinación (61.3%).

Tabla 7. Efecto de la temperatura de almacenamiento en la variable de germinación de semillas de *Tillandsia prodigiosa*, *T.carlos-bankii*, *T.bourgaei*, *T. fasciculata*, *T. makoyana*, *T. violacea*.

Temperatura	n	Promedio
21.5 ± 5.4	96	61.3 ± 34.0 b *
10° C	96	70.3 ± 30.3 a
0° C	96	71.7 ± 28.5 a
-20 °C	96	70.5 ± 28.4 a

\*En columna , los porcentajes seguidos de letras iguales no difieren significativamente ( Tukey,  $P \leq 0.05$ )

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la germinación, en la interacción especie \*tiempo de almacenamiento ( $F= 5.67$ ;  $P<0.0001$ ), los mayores porcentajes de germinación de las especies se obtuvieron en diferentes periodos de almacenamiento; a los tres meses tres especies: *T. prodigiosa* (95.1%), *T. carlos –bankii* (84.8%) y *T. makoyana* (84.6%), a los nueve meses *T. fasciculata* alcanzó el mayor porcentaje de germinación ( 15.2%), a los doce meses de almacenamiento *T. bourgaei* alcanzó el mayor porcentaje de germinación (94.2%) y *T. violacea* (63.4%) (Tabla 8).

Tabla 8. Efecto de la interacción especie \*tiempo de almacenamiento sobre la variable germinación en semillas de seis especies de Tillandsia.

Especie	Tiempo (meses)	% de germinación ± SD
<i>T. prodigiosa</i>	tres	95.1 ± 1.1 a
	seis	89.3 ± 3.3 a
	nueve	92.6 ± 1.1 a
	doce	89.4 ± 5.0 a
<i>T. carlos- bankii</i>	tres	84.8 ± 4.3 b
	seis	66.4 ± 6.0 c
	nueve	79.9 ± 3.5 c
	doce	77.0 ± 7.2 c
<i>T. bourgaei</i>	tres	91.4 ± 3.7 a
	seis	88.0 ± 1.6 a
	nueve	92.8 ± 2.0 a
	doce	94.2 ± 1.7 a
<i>T. fasciculata</i>	tres	11.1 ± 3.9 e
	seis	14.4 ± 2.8 e
	nueve	15.2 ± 4.1 e
	doce	15.1 ± 6.4 e
<i>T. makoyana</i>	tres	84.6 ± 3.3 b
	seis	80.3 ± 6.9 b
	nueve	82.3 ± 4.4 b
	doce	61.9 ± 31.3 c
<i>T. violacea</i>	tres	54.9 ± 18.2 d
	seis	52.8 ± 22.6 d
	nueve	50.8 ± 25.9 d
	doce	63.4 ± 41.4 c

En la interacción especie\*temperatura de almacenamiento se encontraron diferencias significativas (F= 3.89; P<0.0001) entre las especies evaluadas, *T. prodigiosa* y *T. bourgaei* presentaron porcentajes superiores a 90% bajo los diferentes niveles de tratamiento, el mismo patrón de comportamiento lo presenta *T. carlos-bankii* pero con porcentajes >70%; *T. fasciculata* tuvo el menor porcentaje de germinación de las seis especies evaluadas y presentó la misma capacidad de respuesta bajo los cuatro niveles de tratamiento; *T. makoyana* tuvo una mejor respuesta germinativa a 10 °C y -20 °C , presentó

el menor porcentaje de germinación en ambiente; *T. violacea* presentó el más alto porcentaje de germinación en 0 °C y el menor porcentaje en temperatura ambiente (Tabla 9).

Tabla 9. Efecto de la interacción especie \*temperatura de almacenamiento sobre la variable germinación en semillas de seis especies de Tillandsia.

Especie	Temperatura de almacenamiento	% de germinación
<i>T. prodigiosa</i>	21.5 ± 5.4	90.3 ± 6.0 a
	10 °C	92.8 ± 1.5 a
	0° C	92.1 ± 3.1 a
	-20°C	91.3 ± 4.1 a
<i>T. carlos- bankii</i>	21.5 ± 5.4	73.4 ± 10.2 b
	10 °C	78.8 ± 8.3 b
	0° C	79.4 ± 3.6 b
	-20°C	76.5 ± 12.1 b
<i>T. bourgaei</i>	21.5 ± 5.4	91.4 ± 2.5 a
	10 °C	93.6 ± 2.9 a
	0° C	91.3 ± 2.1 a
	-20°C	90.2 ± 4.8 a
<i>T. fasciculata</i>	21.5 ± 5.4	8.5 ± 1.6 f
	10 °C	14.9 ± 4.4 f
	0° C	16.6 ± 4.3 f
	-20°C	15.9 ± 1.7 f
<i>T. makoyana</i>	21.5 ± 5.4	73.5 ± 10.7 b
	10 °C	85.1 ± 3.6 a
	0° C	83.7 ± 3.9 b
	-20°C	83.8 ± 4.1 a
<i>T. violacea</i>	21.5 ± 5.4	30.6 ± 29.0 e
	10 °C	56.8 ± 17.0 d
	0° C	67.1 ± 24.1 c
	-20°C	65.4 ± 19.0 c

En la interacción tiempo \* temperatura de almacenamiento, se presentaron diferencias significativas (F=6.28;  $P < 0.001$ ), presentándose un decremento significativo en la germinación a los doce meses de almacenamiento en temperatura ambiente (Tabla 10)

Tabla 10. Efecto de la interacción tiempo de almacenamiento\* temperatura de almacenamiento sobre la variable germinación en semillas de seis especies de Tillandsia.

Tiempo (meses)	Temperatura (grados centígrados)	% de germinación $\pm$ SD
Tres	21.5 $\pm$ 5.4°C	72.0 $\pm$ 33.2 a
Tres	10 °C	69.9 $\pm$ 34.7 a
Tres	0° C	65.7 $\pm$ 34.5 a
Tres	-20°C	73.7 $\pm$ 29.3 a
Seis	21.5 $\pm$ 5.4°C	60.8 $\pm$ 30.1 a
Seis	10 °C	64.4 $\pm$ 30.4 a
Seis	0° C	73.3 $\pm$ 29.5 a
Seis	-20°C	62.3 $\pm$ 28.3 a
Nueve	21.5 $\pm$ 5.4°C	60.1 $\pm$ 39.0 a
Nueve	10 °C	71.1 $\pm$ 29.7 a
Nueve	0° C	71.4 $\pm$ 28.8 a
Nueve	-20°C	73.0 $\pm$ 28.1 a
Doce	21.5 $\pm$ 5.4°C	52.3 $\pm$ 38.7 b
Doce	10 °C	75.9 $\pm$ 28.6 a
Doce	0° C	74.7 $\pm$ 26.6 a
Doce	-20°C	74.6 $\pm$ 31.0 a

En la interacción especie \*tiempo\* temperatura de almacenamiento, se presentaron diferencias significativas ( $F=2.92$ ;  $P < 0.001$ ); en los tres meses de almacenamiento, en cinco de las seis especies evaluadas se registró un notable incremento en los porcentajes de germinación con respecto a la germinación inicial; *T. prodigiosa* y *T. bourgaei* alcanzaron porcentajes superiores a 90% bajo los cuatro niveles de tratamiento de temperatura y en forma opuesta *T. fasciculata* presentó porcentajes inferiores a 16%.

A los seis meses de almacenamiento, se observó el mismo patrón en cuanto al incremento en la capacidad germinativa comparada con la germinación inicial, cuatro de las seis especies evaluadas presentaron porcentajes superiores al porcentaje inicial, sin embargo este incremento fue en menor

proporción que el registrado a los tres meses de evaluación. *T. prodigiosa* fue la especie que presentó el mayor porcentaje de germinación 93.7% en semillas almacenadas a 10° C, y en forma opuesta *T. fasciculata* presentó porcentajes inferiores a 16% bajo los cuatro niveles de tratamiento de temperatura .

A los nueve meses de almacenamiento de manera similar a los tres meses de evaluación, en cinco de las seis especies evaluadas se registró un notable incremento en los porcentajes de germinación con respecto a la germinación inicial. *T. bourgaei* fue la especie que presentó el mayor porcentaje de germinación 94.3% de semillas almacenadas a 10° C y 94.0 en temperatura ambiente, y en forma opuesta *T. fasciculata* presentó porcentajes menores a 18% bajo los cuatro niveles de tratamiento de temperatura.

La última evaluación correspondiente a los 12 meses de almacenamiento se presentó un incremento en los porcentajes de germinación en tres de las seis especies evaluadas, sin embargo los porcentajes de las otras tres especies que no incrementaron fueron en la misma proporción que la germinación inicial, *T. bourgaei* alcanzó el mayor porcentaje de germinación ( 95.8%) de las seis especies evaluadas en 10° C.

De las seis especies evaluadas *T. prodigiosa* y *T. bourgaei* presentaron los más altos porcentajes de germinación, (Tabla 1, Fig. 1).

Tabla 11. Efecto de la interacción tiempo x temperatura x especie bajo condiciones de almacenamiento sobre la variable germinación en semillas de seis especies de *Tillandsia*.

Tiempo (meses)	Temperatura	<i>prodigiosa</i>	<i>carlos-hankii</i>	<i>bourgaei</i>	<i>fasciculata</i>	<i>makoyana</i>	<i>violacea</i>
		% de germinación ± SD					
tres	21.5 ± 5.4	95.8 ± 3.5 a	85.9 ± 4.5 c	91.3 ± 5.4 a	7.5 ± 3.0 h	86.3 ± 9.5 a	65.0 ± 31.6 e
tres	10 °C	94.2 ± 2.2 a	84.9 ± 2.0 c	95.2 ± 1.7 a	8.5 ± 1.9 h	88.3 ± 5.5 a	48.5 ± 24.1 g
tres	0° C	94.1 ± 1.9 a	78.9 ± 6.3 e	92.8 ± 3.2 a	12.5 ± 5.7 h	83.3 ± 6.8 a	32.5 ± 5.7 g
tres	-20°C	96.4 ± 2.7 a	89.4 ± 6.5 e	86.4 ± 3.0 a	16.0 ± 6.9 h	80.8 ± 15.8 c	73.5 ± 26.4 e
seis	21.5 ± 5.4	90.0 ± 4.9 a	61.5 ± 8.3 e	88.0 ± 8.5 a	10.5 ± 3.4 h	71.3 ± 15.3 e	43.5 ± 8.3 g
seis	10 °C	93.7 ± 2.1 a	67.3 ± 12.0 e	89.3 ± 8.1 a	16.5 ± 1.9 h	80.0 ± 3.4 c	39.5 ± 7.8 g
seis	0° C	87.5 ± 7.0 a	74.5 ± 7.2 e	89.0 ± 7.5 a	14.0 ± 5.6 h	88.3 ± 6.9 a	86.5 ± 6.2 a
seis	-20°C	86.3 ± 4.9 a	62.3 ± 5.9 e	85.8 ± 6.1 c	16.5 ± 7.0 h	81.5 ± 4.2 c	41.5 ± 7.5 g
nueve	21.5 ± 5.4	93.5 ± 4.4 a	75.8 ± 10.5 e	94.0 ± 2.9 a	9.0 ± 3.4 h	75.8 ± 7.8 e	12.5 ± 22.7 h
nueve	10 °C	92.8 ± 2.6 a	78.3 ± 3.3 e	94.3 ± 1.9 a	16.0 ± 6.7 h	85.5 ± 13.7 c	60.0 ± 26.3 e
nueve	0° C	93.3 ± 1.3 a	82.5 ± 3.1 c	90.0 ± 1.4 a	18.0 ± 3.5 h	84.5 ± 6.3 c	70.0 ± 6.4 e
nueve	-20°C	91.0 ± 3.7 a	83.0 ± 3.4 c	93.0 ± 5.4 a	17.5 ± 4.4 h	83.3 ± 7.5 c	60.5 ± 11.0 e
doce	21.5 ± 5.4	82.0 ± 8.2 c	70.3 ± 15.7 e	92.3 ± 2.6 a	7.0 ± 1.7 h	60.5 ± 7.5 e	1.5 ± 1.5 h
doce	10 °C	90.8 ± 2.9 a	84.8 ± 7.6 c	95.8 ± 3.6 a	18.5 ± 2.2 h	86.5 ± 11.2 a	79.0 ± 0.5 d
doce	0° C	93.3 ± 5.7 a	81.5 ± 3.1 c	93.3 ± 4.3 a	22.0 ± 3.9 h	78.8 ± 6.0 e	79.5 ± 3.0 d
doce	-20°C	91.3 ± 3.1 a	71.5 ± 15.7 e	95.5 ± 7.1 a	13.5 ± 1.7 h	89.8 ± 7.8 a	86.0 ± 3.4 b

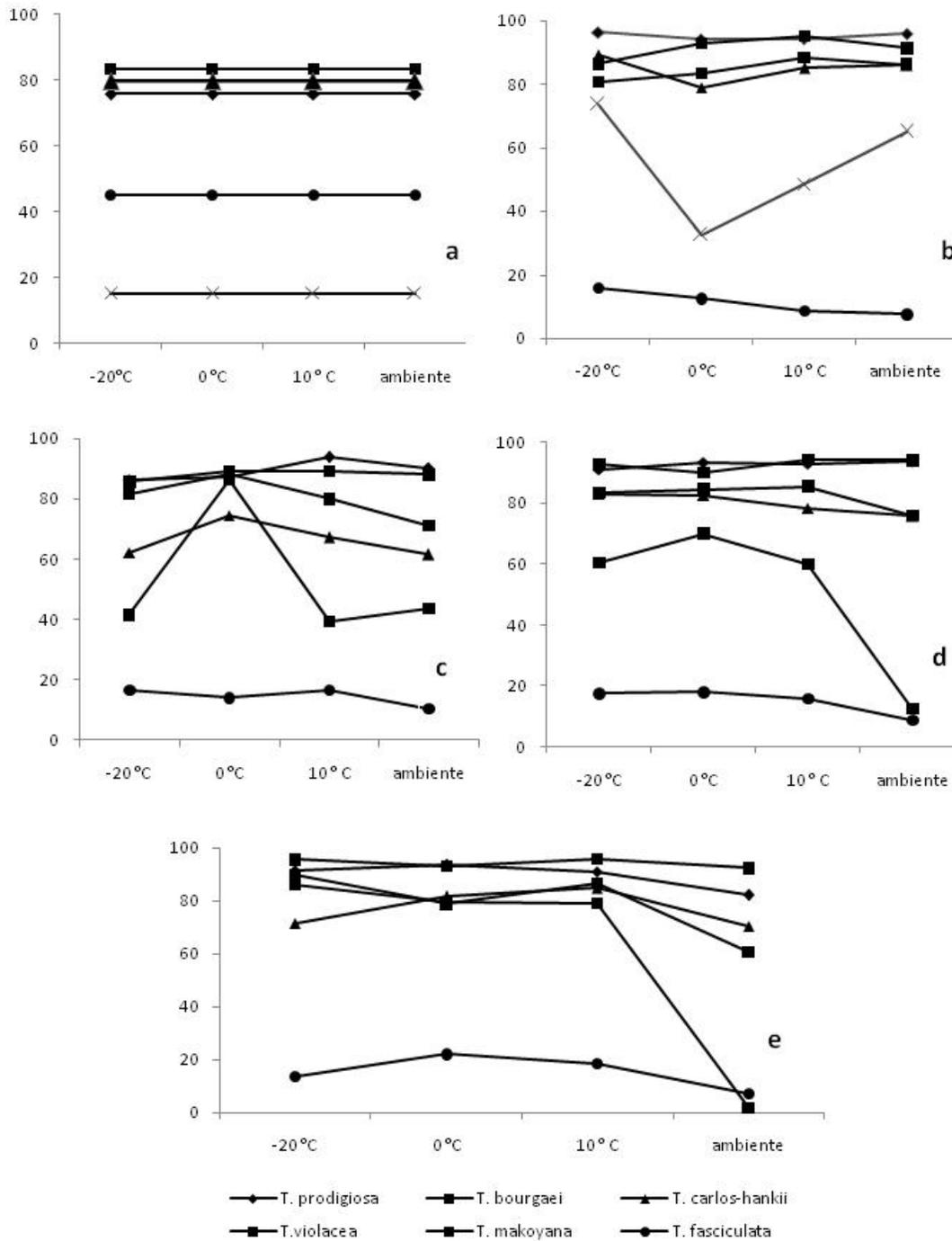


Fig. 1 porcentajes de germinación de seis especies de *Tillandsia*, en 5 periodos de evaluación durante un año de almacenamiento: (a) inicio (b) tres meses, (c) seis meses, (d) nueve meses, (e) doce meses. Condición de almacenamiento: (-20 °C, 0 °C, 10 °C) testigo (temperatura ambiente (21.5 °C)). Germinación a 25 °C, fotoperiodo neutro.

## Discusión

Las semillas que ingresan con alta viabilidad a almacenamiento tienen mayor probabilidad de sobrevivencia durante el período de almacenamiento (Rao *et al.*, 2007), por tanto este requerimiento es indispensable para llevar a cabo una conservación *ex situ* exitosa, ya que el objetivo de la conservación radica en que las semillas almacenadas puedan producir plantas vigorosas cuando se les lleve a su hábitat. Esto se corrobora con nuestro estudio, en donde las especies que al inicio de almacenamiento presentaron porcentajes de capacidad germinativa elevados (superiores al 75%): *Tillandsia buorgaei*, *T. prodigiosa*, *T. carlos-bankii* y *T. makoyana*, mismos que se encuentran dentro del parámetro de calidad establecido para el ingreso de semillas silvestres a bancos de germoplasma (Rao *et al.*, 2007), mantuvieron su viabilidad por más tiempo que *T. fasciculata* especie que ingresó con bajo porcentaje de germinación (40.0%) y en los meses subsecuentes de almacenamiento, el porcentaje disminuyó hasta (13%) (Tabla 3), sin embargo, *T. violácea* que ingresó con el menor porcentaje de germinación (15.2%) tuvo un incremento en la germinación (55%) sin llegar al porcentaje de calidad establecido.

Se ha documentado que semillas inmaduras generalmente poseen un potencial de almacenamiento más corto que semillas que han alcanzado la completa madurez, ya que tienden a ser más susceptibles a procesos de daño ya sea mecánico o por calor y puede ser más propensos a contaminación (Hay y Smith, 2003). Este fenómeno fue evidente en *T. fasciculata* y *T. violácea* donde al finalizar el periodo de evaluación bajo condiciones ambientales el porcentaje de germinación fue de 7.0% y 1.5% respectivamente, estas especies presentaron alta proporción de semillas muertas, es decir semillas que al entrar en contacto con el agua después del proceso de imbibición, se observó cambio de coloración a negras y posteriormente se contaminaban con hongos.

Los bajos porcentajes de germinación de *T. fasciculata* y *T. violacea* pudieran atribuirse a una colecta inadecuada de las semillas, ya que en el caso de estas dos especies debido a la poca disponibilidad de semillas, la colecta se realizó en dos fechas la primera al inicio de la dispersión y la segunda en junio cuando comenzó la época de lluvias. En estudios realizados en otro tipo de semillas, Bewley y Black (1994) mencionan que la pérdida de viabilidad está directamente relacionada con la colecta de semillas inmaduras y con la colecta realizada en condiciones de alta humedad, ya que las semillas son más propensas a sufrir daños irreversibles. Las semillas de *Tillandsia* poseen testas suaves, las cuales les confieren poca protección a diversos factores ambientales, así como al manejo al momento de la colecta y en almacenamiento. Cuando la semilla se deteriora, durante el almacenamiento, pierde vigor, se vuelve más sensible o no logra completar el proceso de germinación (Rajjou y Debeaujon, 2008).

No obstante, se ha documentado que semillas colectadas justo antes de la dispersión, fisiológicamente son capaces de alcanzar la madurez bajo condiciones controladas y dando como resultado un incremento en la longevidad en almacenamiento, siempre y cuando completen el proceso de desecación (Bewley y Black, 1994; Hay y Probert 1995; Hay *et al.*, 1997; Probert y Hay, 2000; Schdmith, 2000; Hay y Smith 2003), esto ha sido reportado sólo para frutos secos, como el caso de las cápsulas de *Tillandsia*. El aumento en la capacidad germinativa dentro del almacenamiento se debe a que se continúa el proceso de desecación, en esta fase final de desarrollo concluye la maduración de las semillas, ocurren cambios metabólicos donde el agua disponible en los tejidos se torna altamente viscosa y detiene o minimiza las reacciones químicas de difusión molecular, este sistema previene la desnaturalización de las proteínas, la cristalización de solutos (Bewley y Black, 1994) Además en esta fase final de desarrollo de las semillas hay un decrecimiento en contenido de

ABA, inhibidor de la germinación (Angelovici *et al.*, 2010). En nuestro estudio pudimos observar que a partir de los tres meses almacenamiento hubo un notable incremento en los porcentajes de germinación en *T. prodigiosa*, *T. bourgaei*, *T. carlos-bankii* y *T. makoyana* (Tabla 6) bajo todas las condiciones de almacenamiento, este proceso se observó aún en las semillas de *T. violacea* cuya capacidad germinativa durante almacenamiento fue superior a la germinación inicial. Para bromelias este comportamiento ya había sido reportado por Tarré *et al.*, (2007) quienes mencionan este mismo patrón de comportamiento en semillas de seis especies de *Encholirium* y dos especies de *Dyckia* (Bromeliaceae) donde se incrementó el porcentaje de germinación de las semillas almacenadas a 4 °C y -20 °C.

Diversos estudios han reportado una correlación potencial entre la longevidad de las semillas en almacenamiento con las características fisiológicas y morfológicas de las semillas, así como relaciones filogenéticas (Pritchard y Dickie, 2003; Walters *et al.*, 2005, Probert *et al.*, 2009) Walters *et al.*, (2005) reportaron que la relación taxonómica y el componente climático confieren diferencias interespecíficas en longevidad de las semillas bajo condiciones de almacenamiento, algunas familias no pueden ser almacenadas a largo plazo (Apiaceae, Brassicaceae) en cambio Malvaceae y Chenopodiaceae tienen mayor sobrevivencia en almacenamiento, así como especies originarias de climas fríos y húmedos tienden a producir semillas que envejecen y mueren rápidamente, y semillas provenientes de climas cálidos y secos tienden a una mayor sobrevivencia, por lo que es necesario evaluar las condiciones de almacenamiento para accesiones colectadas en diferentes ecosistemas. En nuestro caso las especies evaluadas son de clima semicálido-subhúmedo a semifrío-subhúmedo, provenientes de diferentes tipos de vegetación pino-encino, encinar arbustivo y selva baja (Tabla 1), no obstante especies provenientes de climas más fríos (*T. carlos bankii*) presenta un comportamiento de almacenamiento similar a las especies de los climas más cálidos (*T. bourgaei* y *T. makoyana*) probablemente porque

comparten el ambiente epifito, el cual se caracteriza por severos cambios ambientales, lo que parece sugerir que los requerimientos para almacenar semillas de este género, independientemente del ecosistema que provengan son similares, la característica que les confiere la sobrevivencia en almacenamiento es la ortodoxia ya que se sabe que semillas de frutos secos, con bajos contenidos de humedad retienen su viabilidad por largos periodos de tiempo si se almacenan bajo condiciones adecuadas como humedad relativa baja y temperaturas constantes (Bewley y Black, 2004).

Las temperaturas recomendadas para el almacenamiento de semillas oscilan entre 0 y 10 °C, cuando el contenido de humedad es muy reducido, la temperatura puede bajar de cero grados, sin producir rompimiento de tejidos (Harrington, 1972; Bewley y Black, 1994), dato que se corroboró en este estudio, las temperaturas que no afectaron significativamente la viabilidad de las semillas fueron de 0°C, 10 °C y -20 °C (Tabla 5).

## Conclusión

Las especies estudiadas presentaron diferencias en su capacidad germinativa al inicio de almacenamiento *T. bourgaei* presentó el mayor porcentaje (83.3%), y le siguieron en orden descendente *T. makoyana*, *T. carlos-bankii*, *T. prodigiosa*, *T. fasciculata* y *T. violacea* (15.16%).

Este patrón de comportamiento fue similar bajo condiciones de almacenamiento, las especies presentaron diferencias en su capacidad germinativa en los cuatro periodos de evaluación *T. bourgaei* y *T. prodigiosa* presentaron el mayor porcentaje de germinación 91.6%, y le siguieron en orden descendente *T. makoyana*, *T. carlos-bankii*, *T. violácea* y *T. fasciculata* (13.9%).

Si bien las especies de *Tillandsia* poseen semillas de testas suaves que se deterioran fácilmente bajo condiciones ambientales, bajo almacenamiento ellas poseen un gran potencial de almacenamiento.

Los resultados indican que hay un efecto significativo de las condiciones de almacenamiento en la capacidad germinativa de las especies evaluadas de *Tillandsia*, sin embargo las semillas almacenadas a bajas temperaturas mantienen su viabilidad.

El punto crucial en la conservación *ex situ* de las semillas de *Tillandsia* es la calidad de las semillas que ingresan a almacenamiento.

## Literatura citada

- Angelovici, R., Galili G., Fernie A.R. y A. Fait. 2010. Seed desiccation: a bridge between maturation and germination. *Revista Trends in Plant Science*. 15: 211-218.
- Bewley, J.D., Black M. 1994 *Seeds: physiology of development and germination*. Second edition. Plenum Press. New York.
- Bennett, B., 2000. *Ethnobotany of Bromeliaceae*. En Benzing, D.H. *Profile of and adaptative radiation*. Cambridge University Press. Cambridge 665 p.
- Espejo, S. A. & López- Ferrari A. R. 2004. *Conocimiento Florístico y fitogeográfico actual de las Bromeliáceas mexicanas*. Herbario Metropolitano, Departamento de Biología. México, D. F. pp 86.
- Espejo, S. A., López-Ferrari A. R, Martínez-Correa N, Pulido- Esparza V. 2007. *Bromelias Flora de Oaxaca, México: Richness and Distribution*. *Acta Botánica Mexicana*. 81:71-14.
- Fenner, M. y Thompson, K. 2005. *The Ecology of Seeds*. Cambridge University Press. United Kingdom. 250 pp.
- Gentry, A. H. 1992. *Tropical forest biodiversity: distributional patens and their conservational significance*. *Oikos* 63: 19-28.
- Gordon, J. E., D.H William., A. Reyes-García., G.Sandoval y B. Adrian. 2003. *Assessing landscapes: a case study of tree and shrub diversity in the seasonally dry tropical forest of Oaxaca, Mexico and Southern Honduras*. *Revista Biological Conservation* 117: 429-442.
- Gold, K.; P. León-Lobos. y M. Way 2004. *Manual de recolección de semillas de plantas silvestres para conservación a largo plazo y restauración ecológica*. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Intihuasi, La Serena, Chile. Boletín INIA N° 110. 62 pp.
- Harrington, J.F. 1972. *Seed storage and longevity*. In: Kozlowiski T.T. ed. *Seed biology*, Vol III. New York. N. Y: Academic Press. 145-245 Pp.
- Hay, F.R Y Probert, R.J. 1995. *Seed maturity and the effects of different drying conditions on tolerance desiccation and seed longevity on Floxglove (*Digitalis purpurea* L. )* *Annals of Botany* 76: 639-647.
- Hay, F.R Y Probert, R.J. y Coomber, S.A. 1997. *Development of desiccation tolerance and longevity in seeds from detached capsules of Floxglove (*Digitalis purpurea* L.)* *Seed Science Research* 7: 341-349.

- Hay, F.R y Smith, R.D. 2003. Seed maturity: when to collect seeds from wild plant. En Smith R.D, Dickie J.B., Linington S.H., Pritchard H.W., Probert R. J. eds. Seed conservation: turning science into practice. London Royal, Botanical Garden. Kew, 97-133 Pp.
- Hong, T. D. y Ellis, R. H. 199. A comparison of maturation drying , germination and desiccation tolerance between developing seeds of *Acer pseudoplatanus* L. and *Acer platanoides* L. *New Phytologist* 116: 589-596.
- Hong, T. D. y Ellis, R.H. 1996. A protocol to Determine Seed Storage Behavior. Department of Agriculture, The University of Reading, U.K. 61 pp.
- Humphreys, L. R., and F. Riveros. 1986. Tropical pastures seed production. Plant Production and Protection Paper. FAO. Rome. pp:152-1.
- Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática, (INEGI) 1998. Carta topográfica Oaxaca E 14-9 escala 1: 250 000
- Li, D.Z y Pritchard, H. W. 2009. The science and economics of ex situ plant conservation. *Revista Trends In Plant Science* 21: 614-622.
- Luther, H.E. 2008. An alphabetical list of bromeliads. 11<sup>th</sup> ed. The Bromeliad Society International, Sarasota.
- Myers, N., R.A. Mittermeier., C.G. Mittersmeier., G.A. B. da Fonseca y J. Kent. 2000. Biodiversity Hotspots for Conservation Priorities. *Revista Nature* 403: 853-858.
- Mondragón, D. y D. Villa 2008. Estudio etnobotánico de las bromelias epífitas en la comunidad de Sta. Catarina Ixtepeji. *Polibotánica* 26: 175-191.
- Mondragón, D. 2009 Aspectos Etnobotánicos de la comercialización de bromelias epífitas en Oaxaca. *Revista de Etnobiología*. 6:24-28
- Norma Oficial Mexicana Nom-059. Semarnat-2001. Publicada En El Diario Oficial, México 6 De Marzo 2002
- Norma Oficial Mexicana Nom-059. Semarnat-2010. Publicada En El Diario Oficial, México 31 De Diciembre 2010.
- Pereira C., F.L. Cuquel e M. Panobianco. 2010. Germinação e armazenamento de sementes de *Nidularium innocentii* (Lem.). *Revista Brasileira de Sementes* 32: 36-41.
- Pritchard H.W., Dickie J.B. 2003. Predicting seed longevity. The use and abuse of seed viability equations. En Smith R.D, Dickie J.B., Linington S.H., Pritchard H.W., Probert R. J. eds. Seed conservation: turning science into practice. London Royal, Botanical Garden. Kew, 655-721.

- Probert, R. J. y Hay, F.R. 2000. Keppin seedes alive. In Black y J.D. Bewley. Ed. Seed technology and its biological basis. Sheffield Academic Press, Sheffield, UK. 375-410 Pp.
- Probert R. J., Daws M.I., Hay F.R. 2009. Ecological correlates of ex situ seed longevity: a comparative study on 195 species. *Annals of Botany* 104: 57-69.
- PROFEPA, 2000. Las cactáceas, bromelias y orquídeas en peligro de extinción. PROFEPA Delegación Oaxaca.
- Rajjou, L. y Debeaujon, I. 2008. Seed Longevity: Survival and maintenance of high germination ability of dry sedes. *Revista C.R Biologies* 331: 796-805.
- Rao, N. K., J. Hanson, M.E Dulloo., K. Ghosh., D. Nowell y M. Larinde. 2007. Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma. Manual bancos de germoplasma No.8. 165pp.
- Smith, L. B y R. J. Downs. 1974. Pitcarnioideae (Bromeliaceae) In: *Flora Neotropica* 14(2): 659-1492
- Schmidt, L., 2007. Tropical Forestry. Tropical Forest Seed. 978p.
- Tarré, E., B.B. Mendes-Pires, A.P. Macano-Guimaraes, L. Alves-Carneiro, R. Campotrini-Forzza and E. Mansur. 2007. Germinability after desiccation, storage and cryopreservation of seeds from endemic *Encholirium* Mart. Ex Schult. & Schult. F. and *Dyckia* Schult. &Schult. F. species (Bromeliaceae). *Acta Bot. Brasil.* 21: 777-783.
- Walters, C. Wheeler L.M., Grotenhius J.M. 2005. Longevity of seed stored in a genebank: species characteristics. *Seed Science Research* 15: 1-20.
- Wolf, J. H. D y C. F. J. Konings, 2001. Toward the sustainable harvesting of epiphytic bromeliads: a pilot study of the highland of Chiapas México. *Biological Conservation.* 101:23-31.
- Zacarias-Eslava, Y. 2009. Composición y estructura del bosque templado de Santa Catarina ixtepeji , Oaxaca, a lo largo de un gradiente altitudinal. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. México. 61 p.
- Zar, J. H. 1999. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall. United States of America. 273-280 p.

## Conclusión general

Conocer y documentar la calidad de semillas colectadas, así como la determinación del comportamiento de la semillas bajo diferentes condiciones de almacenamiento, son objetivos que permiten establecer las condiciones adecuadas de almacenamiento a largo plazo.

En este estudio se presentó variación en la calidad de las semillas de las especies evaluadas. Las semillas de seis especies de *Tillandsia* presentaron diferencias significativas en la proporción de semilla completas (viables) e incompletas.

Las especies evaluadas presentaron diferencias en su capacidad germinativa. *T. bourgaei* presentó el mayor porcentaje (83.3%), y le siguieron en orden descendente *T. makoyana*, *T. carlos-bankii*, *T. prodigiosa*, *T. fasciculata* y *T. violacea* (15.16%).

El patrón de germinación se repitió en la tasa de germinación. La proporción de semillas completas (análisis radiográfico) y la capacidad germinativa mostraron una correlación positiva y significativa.

La variación en la calidad de las semillas colectadas fue un factor determinante en el grado de tolerancia a la desecación que presentaron las semillas, por ello se requiere evaluar diferentes lotes, de diferentes sitios de proveniencia debido a la heterogeneidad de las especies, sin embargo las especies evaluadas en este estudio presentaron tolerancia a la desecación, catalogándose como comportamiento ortodoxo.

Bajo condiciones de almacenamiento este comportamiento de almacenamiento se corroboró, ya que las semillas pudieron ser almacenadas a -20°C, sin perder viabilidad.

Las especies presentaron diferencias significativas en su capacidad germinativa en los cuatro periodos de evaluación, *T. bourgaei* y *T. prodigiosa* presentaron el mayor porcentaje de germinación 91.6%, y le siguieron en orden descendente *T. makoyana*, *T. carlos-bankii*, *T. violácea* y *T. fasciculata* (13.9%).

A pesar de que las especies de *Tillandsia* poseen semillas de testas suaves que se deterioran fácilmente bajo condiciones ambientales, bajo almacenamiento ellas poseen un gran potencial de almacenamiento, siendo requisito indispensable la calidad de las semillas.

Las semillas de *Tillandsia* almacenadas a bajas temperaturas mantuvieron su viabilidad durante un año.