

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
ÁREA INTEGRADA**



**PROPAGACIÓN *IN VIVO* E *IN VITRO* DE ESPECIES DEL GÉNERO *TILLANDSIA*
(Bromeliaceae) EN EL VIVERO CLAVELA DEL AIRE, S.A.
ALDEA SAJCAVILLÁ, SAN JUAN SACATEPÉQUEZ, GUATEMALA**

JOSÉ ROLANDO MANSILLA MÉNDEZ

Guatemala, abril de 2007

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
ÁREA INTEGRADA**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN
PROPAGACIÓN *IN VIVO* E *IN VITRO* DE ESPECIES DEL GÉNERO *TILLANDSIA*
(Bromeliaceae) EN EL VIVERO CLAVELA DEL AIRE, S.A.
ALDEA SAJCAVILLÁ, SAN JUAN SACATEPÉQUEZ, GUATEMALA
DE AGOSTO DE 2005 A MAYO DE 2006**

**PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
AGRONOMÍA
DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

POR

JOSÉ ROLANDO MANSILLA MÉNDEZ

EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO

INGENIERO AGRÓNOMO

EN

SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

EN EL GRADO ACADÉMICO DE LICENCIADO

Guatemala, abril de 2007

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

RECTOR MAGNÍFICO

Lic. Carlos Estuardo Gálvez Barrios

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA

DECANO	Dr.	Ariel Abderramán Ortiz López
VOCAL PRIMERO	Ing. Agr.	Alfredo Itzep Manuel
VOCAL SEGUNDO	Ing. Agr.	Walter Arnoldo Reyes Sanabria
VOCAL TERCERO	Ing. Agr.	Danilo Ernesto Dardón Ávila
VOCAL CUARTO	Br.	Duglas Antonio Castillo Álvarez
VOCAL QUINTO	P. Agr.	José Mauricio Franco Rosales
SECRETARIO	Ing. Agr.	Pedro Peláez Reyes

Guatemala, abril de 2007

Honorable Junta Directiva
Honorable Tribunal Examinador
Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos de Guatemala
Presente

Honorables miembros:

De conformidad con las normas establecidas en la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración el trabajo de Graduación realizado en la

**PROPAGACIÓN *IN VIVO* E *IN VITRO* DE ESPECIES DEL GÉNERO *TILLANDSIA*
(Bromeliaceae) EN EL VIVERO CLAVELA DEL AIRE, S.A.
ALDEA SAJCAVILLÁ, SAN JUAN SACATEPÉQUEZ, GUATEMALA
DE AGOSTO DE 2005 A MAYO DE 2006**

Como requisito previo a optar el Título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.

Esperando que el mismo llene los requisitos necesarios para su aprobación, me es grato suscribirme.

Atentamente,

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”

JOSÉ ROLANDO MANSILLA MÉNDEZ

ACTO QUE DEDICO

A:

DIOS

Nuestro Señor.

MI MADRE

Julia de Mansilla

MI PAPÁ

Carlos Leonel Mansilla

MIS ABUELOS

Matilde de Marroquín y Josefina Méndez

MIS TÍOS

Rolando Mansilla, Estela y Ana María

MIS HERMANOS

Patricia, Carlos Adolfo, Mirna, Edwin

MIS SOBRINOS

Carlos Heberto, Alejandro, Pablo y Uwe Martín

MIS AMIGOS

Estuardo Arroyave, Tono Molina, David Valdez, Farley Castro, Luis Garrido, Raúl Gabriel Vargas, Raúl Cruz, Rafael Guizar, Adolfo García, Doris de Salaverría, Rubén Pocop, Rudy Navichoc, Baldomero Sandoval, Roberto Benavente, Miguel Barrios, Familia De León Illescas y Familia Ponciano Ruiz.

USTED ESPECIALMENTE

Que me acompaña el día de hoy.

AGRADECIMIENTOS

A:

Los Ingenieros Agrónomos asesores: **Silvel Elías Gramajo, Domingo Amador y Marco Vinicio Fernández.**

Los Ingenieros Agrónomos:

Héctor Sagastume

Luís Montes

Luís Molina

Luís Monterroso

Carlos Orozco

Isaac Herrera

Eugenio Orozco

Julio Taracena

Hermógenes Castillo

Darwin González

Edgar Franco

Efraín Medina

Tomás Padilla

Luis Reyes

Walter Reyes

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	v
ÍNDICE DE CUADROS	vii
RESUMEN GENERAL	ix
CAPÍTULO I: DIAGNÓSTICO DE LA PRODUCCIÓN DE ESPECIES DEL GÉNERO <i>TILLANDSIA</i> EN EL VIVERO CLAVELA DEL AIRE, S.A.	1
1.1 PRESENTACIÓN	2
1.2 MARCO REFERENCIAL	3
1.2.1 Ubicación geográfica donde se desarrolló el trabajo	3
1.2.2 Suelos	3
1.2.3 Condiciones climáticas	3
1.2.4 Fuente de agua	4
1.3 OBJETIVOS	5
1.3.1 General	5
1.3.2 Específicos	5
1.4 METODOLOGÍA	6
1.4.1 Reconocimiento del vivero	6
1.4.2 Reconocimiento de las principales especies producidas	6
1.4.3 Descripción del manejo agronómico	6
1.4.4 Identificación de las principales limitantes	6
1.5 RESULTADOS	7
1.5.1 Principales especies de <i>Tillandsias</i> y forma de propagación	7
A. Formas de propagación	7
1.5.2 Fases de la producción y comercialización de las <i>Tillandsias</i>	8
A. Maternidad	9
a. Nutrición	9
b. Control fitosanitario	9
B. Recuperación o desarrollo	10
C. Clasificación	10
D. Empaque	10
1.5.3 Limitantes principales	10
1.6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	11
1.6.1 Conclusiones	11
1.6.2 Recomendaciones	11
1.7 BIBLIOGRAFÍA	12
CAPÍTULO II: INVESTIGACIÓN: PROPAGACIÓN <i>IN VITRO</i> DE LA ESPECIE EPÍFITA <i>Tillandsia caput-medusae</i> Morren (Bromeliaceae) CON FINES DE USO SOSTENIBLE	13
2.1 PRESENTACIÓN	14
2.2 MARCO CONCEPTUAL	15
2.2.1 Descripción de la <i>Tillandsia</i>	15
2.2.2 Clasificación taxonómica de la <i>Tillandsia</i> (4)	15
2.2.3 Métodos de propagación	16

A.	Propagación por semilla	16
B.	Propagación vegetativa	16
2.2.4	Condiciones ambientales	16
2.2.5	Propagación <i>in vitro</i> de las <i>Tillandsias</i>	16
2.2.6	Aspectos generales de la regeneración <i>in vitro</i>	17
A.	Cultivo de tejidos	17
B.	Explante	17
2.2.7	Factores que influyen en el cultivo <i>in vitro</i>	18
A.	Condiciones ambientales para la incubación	18
2.2.8	El medio de cultivo	18
A.	Sales minerales	18
B.	Vitaminas	19
C.	Reguladores de crecimiento	19
2.2.9	Auxinas	19
A.	Efectos biológicos de las auxinas	20
B.	Mecanismos de acción de las auxinas	20
2.2.10	Citocininas	21
A.	Efectos biológicos de las citocininas	21
B.	Mecanismos de acción de las citocininas	22
2.3	OBJETIVOS	23
2.3.1	General	23
2.3.2	Específicos	23
2.4	HIPÓTESIS	23
2.5	METODOLOGÍA	24
2.5.1	Lugar y época	24
2.5.2	Recursos	24
2.5.3	Principales procedimientos en la fase <i>in vitro</i>	24
2.5.4	Diseño experimental	25
2.5.5	Unidad experimental	25
2.5.6	Variables de respuesta	26
2.5.7	Análisis estadístico	26
2.5.8	Boleta de toma de datos	26
2.6	RESULTADOS	27
2.6.1	Número de brotes por planta de <i>Tillandsia caput-medusae</i> Morren	30
A.	Brotos por planta a los 30 días después de la siembra	31
B.	Brotos por planta a los 60 días después de la siembra	32
C.	Brotos por planta a los 90 y 120 días después de la siembra	33
2.6.2	Número de hojas por planta-brote	35
A.	Número de hojas por planta-brote a los 30 días después de la siembra	36
B.	Número de hojas por planta-brote a los 60 días después de la siembra	37
C.	Número de hojas por planta-brote a los 90 días después de la siembra	38
D.	Número de hojas por planta-brote a los 120 días después de la siembra	39

2.6.3	Longitud de planta en centímetros	41
2.6.4	Número de raíces por planta	43
2.7	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	44
2.7.1	Conclusiones	44
2.7.2	Recomendaciones	44
2.8	BIBLIOGRAFÍA	45
CAPÍTULO III: INFORME DE SERVICIOS		47
3.1	SERVICIO 1: EVALUACIÓN DE DOS SUSTRATOS PARA EL CULTIVO DE LA BROMELIA <i>Guzmania lingulata</i> (L.) Mez (Bromeliaceae)	48
3.1.1	Presentación	48
3.1.2	Marco conceptual	49
A.	Descripción botánica de <i>Guzmania lingulata</i> (L.) Mez	49
B.	Medios o sustratos	49
C.	Características de un sustrato	50
D.	Funciones de los sustratos	51
3.1.3	Objetivos	52
A.	General	52
B.	Específicos	52
3.1.4	Hipótesis	52
3.1.5	Metodología	53
A.	Tratamientos	53
B.	Variables de respuesta	53
a.	Número de hojas por planta	53
b.	Longitud de raíces en centímetros	53
c.	Peso fresco de la planta en gramos	53
C.	Diseño experimental y modelo estadístico	54
D.	Unidad experimental	54
E.	Manejo del experimento	54
a.	Selección de plántulas uniformes	54
b.	Preparación de sustrato y llenado de bandejas	55
c.	Siembra de plántulas	55
d.	Condiciones de desarrollo	56
e.	Fertilización y riego	56
f.	Toma de datos	56
E.	Análisis de la información	56
3.1.6	Resultados	58
A.	Número de hojas por planta de la cuarta a la octava semana	58
B.	Longitud de raíces y peso final de la planta	59
C.	Características cualitativas de desarrollo	59
3.1.7	Conclusiones y recomendaciones	62
A.	Conclusiones	62
B.	Recomendaciones	62
3.1.8	Bibliografía	63

3.2	EFFECTO DE LA BENCILAMINOPURINA (BAP) SOBRE EL NÚMERO DE BROTES DE <i>Tillandsia filifolia</i> W. Till (Bromeliaceae)	64
3.2.1	Presentación	64
3.2.2	Marco conceptual	65
	A. Descripción botánica de <i>Tillandsia filifolia</i> W. Till	65
	B. Condiciones agroecológicas de <i>Tillandsia filifolia</i> W. Till	66
	C. Citocininas	66
	a. Efecto de las citocininas	67
3.2.3	Objetivos	68
	A. General	68
	B. Específicos	68
3.2.4	Metodología	69
	A. Tratamientos	69
	B. Variables de respuesta	69
	C. Modelo estadístico	69
	D. Manejo del experimento	70
	a. Selección de plantas para el ensayo	70
	b. Acondicionamiento de la cama de desarrollo	71
	c. Fertilización	71
	d. Aplicación de los tratamientos	72
	e. Toma de datos	72
	E. Análisis de la información	72
3.2.5	Resultados	73
	A. Número de brotes por planta de <i>Tillandsia filifolia</i> W. Till	74
3.2.6	Conclusiones y recomendaciones	77
	A. Conclusiones	77
	B. Recomendaciones	77
3.2.7	Bibliografía	78
3.3	APÉNDICE	79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Material para la propagación <i>in vitro</i> de <i>Tillandsia caput-medusae</i> Morren	27
Figura 2.	Distribución de los tratamientos, y formación de nuevos brotes y hojas durante el ensayo	28
Figura 3.	Investigador epesista de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, durante la toma de datos del número de brotes, número de hojas, longitud de planta y número de raíces a los 30, 60, 90 y 120 días después de la siembra	29
Figura 4.	Resumen de Tukey para el número de brotes por planta de <i>Tillandsia caput-medusae</i> Morren , a los 30 días después de la siembra en cultivo <i>in vitro</i>	31
Figura 5.	Resumen de Tukey para el número de brotes por planta de <i>Tillandsia caput-medusae</i> Morren , a los 60 días después de la siembra en el cultivo <i>in vitro</i>	32
Figura 6.	Resumen de Tukey para el número de brotes por planta de <i>Tillandsia caput-medusae</i> Morren , a los 90 y 120 días después de la siembra en cultivo <i>in vitro</i>	33
Figura 7.	Incremento del número de brotes por planta a través del tiempo, según la dosis de bencilaminopurina empleada	34
Figura 8.	Resumen de Tukey para el número de hojas por planta-brote de <i>Tillandsia caput-medusae</i> Morren , a los 30 días después de la siembra en cultivo <i>in vitro</i>	36
Figura 9.	Resumen de Tukey para el número de hojas por planta-brote de <i>Tillandsia caput-medusae</i> Morren , a los 60 días después de la siembra en cultivo <i>in vitro</i>	37
Figura 10.	Resumen de Tukey para el número de hojas por planta-brote de <i>Tillandsia caput-medusae</i> Morren , a los 90 días después de la siembra en cultivo <i>in vitro</i>	38
Figura 11.	Resumen de Tukey para el número de hojas por planta-brote de <i>Tillandsia caput-medusae</i> Morren , a los 120 días después de la siembra en cultivo <i>in vitro</i>	39
Figura 12.	Incremento del número de hojas por planta-brote de <i>Tillandsia caput-medusae</i> Morren , a través del tiempo	40

Figura 13.	Vista de cada uno de los tratamientos con <i>Tillandsia caput-medusae</i> Morren	41
Figura 14.	Plántulas de <i>Guzmania lingulata</i> (L.) Mez. en cada uno de los dos tratamientos a) sustrato con corteza y b) sustrato con fibra de coco	55
Figura 15.	Toma de datos de longitud de raíces y peso final de la planta a las ocho semanas de montado el ensayo	57
Figura 16.	Resumen de la prueba de Tukey para la separación de medias de la longitud de raíces en centímetros y para el peso en gramos final de la planta <i>Guzmania lingulata</i> (L.) Mez.	59
Figura 17.	Apariencia general de las plantas en el sustrato con corteza de encino (1) y el sustrato con fibra de coco (2)	60
Figura 18.	Vista de la planta completa y flor de la epífita <i>Tillandsia filifolia</i> W. Till	65
Figura 19.	Plantas de <i>Tillandsia filifolia</i> W. Till adheridas a la cama de desarrollo	71
Figura 20.	<i>Tillandsia filifolia</i> W. Till tratada con bencilaminopurina del grupo 1 (G1) mostrando los brotes y no tratada con bencilaminopurina del grupo 2 (g2) sin brotes	73
Figura 21.	Curva de “t” para el número de brotes por planta de <i>Tillandsia filifolia</i> W. Till sometidos a tratamiento con bencilaminopurina y sin bencilaminopurina, en vivero Clavela del Aire, S.A. 2006	75

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Precipitación, temperatura y evaporación mensual y anual	4
Cuadro 2.	Especies de <i>Tillandsia</i> y número de brotes producidos vegetativamente en vivero Clavela del Aire, S.A. 2005	7
Cuadro 3.	Tratamientos evaluados	25
Cuadro 4.	Número de brotes por planta de <i>Tillandsia caput-medusae</i> Morren	30
Cuadro 5.	Síntesis de la prueba de normalidad y ANDEVAS para la variable brotes por planta en cada una de las cuatro lecturas	30
Cuadro 6.	Número de hojas por planta-brote de <i>Tillandsia caput-medusae</i> Morren	35
Cuadro 7.	Síntesis de la prueba de normalidad y ANDEVAS para la variable número de hojas por planta-brote en cada una de las cuatro lecturas	35
Cuadro 8.	Longitud de <i>Tillandsia caput-medusae</i> Morren en centímetros	42
Cuadro 9.	Síntesis de la prueba de normalidad y ANDEVAS para la variable longitud de la planta en centímetros en cada una de las cuatro lecturas	42
Cuadro 10.	Longitud promedio de plantas de <i>Tillandsia caput-medusae</i> Morren, en cada tratamiento y por cada lectura	43
Cuadro 11.	Resumen de Tukey para el número de hojas por planta de <i>Guzmania lingulata</i> (L.) Mez., durante las semanas 4, 5, 6, 7 y 8, en el vivero Clavela del Aire, S.A.	58
Cuadro 12.	Características cualitativas de las plantas de <i>Guzmania lingulata</i> (L.) Mez. en los dos sustratos evaluados	60
Cuadro 13.	Brotes por planta en cada uno de los dos grupos de <i>Tillandsia filifolia</i> W. Till evaluados a los 135 días después del inicio de la aplicación de los tratamientos	74
Cuadro 14.	Resumen de la prueba de “t” para la separación de medias del número de brotes por planta de <i>Tillandsia filifolia</i> W. Till	75

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PROPAGACIÓN *IN VIVO* E *IN VITRO* DE ESPECIES DEL GÉNERO *TILLANDSIA* (Bromeliaceae) EN EL VIVERO CLAVELA DEL AIRE, S.A. ALDEA SAJCAVILLÁ, SAN JUAN SACATEPÉQUEZ, GUATEMALA

IN VITRO AND ALIVE SPREADING OF *TILLANDSIA* (Bromeliaceae) SPECIES IN THE CLAVELA DEL AIRE, S.A., BREEDING PLACE, SAJCAVILLÁ, SAN JUAN SACATEPÉQUEZ, GUATEMALA

RESUMEN

El presente trabajo de graduación es el resultado obtenido de la realización del Ejercicio Profesional Supervisado de Agronomía (EPSA), en vivero Clavela del Aire, S.A., aldea Sajcavillá, San Juan Sacatepéquez, Guatemala, de agosto de 2005 a mayo de 2006 y que constó de diagnóstico, investigación y servicios.

El diagnóstico se realizó en el manejo y propagación de especies del género *Tillandsia*, como base fundamental para el planteamiento de la investigación y los servicios. A través de éste se identificó el problema central que es la baja tasa de propagación de todas las especies que en general es menor a cinco brotes (hijuelos) por planta; entre tanto que la propagación sexual es más efectiva en cuanto a la cantidad de plantas, pero es inconveniente porque es necesario esperar como mínimo cinco años para la floración.

Es necesario apoyar la investigación para cada una de las especies de epífitas del género *Tillandsia*, en cuanto a la propagación *in vivo* (en invernadero) e *in vitro* (a nivel biotecnológico), a fin de desarrollar protocolos que permitan incrementar la tasa de propagación de éstas especies.

La investigación consistió en la propagación *in vitro* de la especie epífita *Tillandsia caput-medusae* Morren (Bromeliaceae) con fines de uso sostenible, encontrando que la mejor dosis de Bencilaminopurina (BAP) para propagar *in vitro* esta especie es de 1 mg de BAP por litro de medio de cultivo Murashige y Skoog (1962), ya que se tienen 22.25 brotes por planta y 42.50 hojas por planta-brote en comparación al testigo, donde solo se

empleo el medio de cultivo Murashige y Skoog sin BAP. Se determinó que la BAP no tiene efecto significativo sobre la longitud de la planta y sobre el número de raíces.

El primer servicio consistió en evaluar dos tipos de sustratos para el cultivo de la planta ornamental ***Guzmania lingulata* (L.) Mez.** Al final del ensayo se concluye que el sustrato con un tercio de corteza más un tercio de arena blanca un tercio de peat moss, es mejor pues proporciona una mayor capacidad de retención de humedad, mejor porosidad y aireación las que fueron vitales durante el desarrollo de las plantas y permitió obtener el mayor número de hojas por planta de 12.25 hojas a las ocho semanas de evaluación, con raíces de 10.91 cm de largo y peso final de la planta de 2.24 gramos; cualitativamente se observó que las plantas cultivadas en este sustrato tuvieron un verde intenso, en comparación al verde amarillento del otro sustrato, las hojas fueron más turgentes orientadas hacia arriba y con bordes bien definidos.

En el segundo servicio se evaluó *in vivo*, la propagación de ***Tillandsia filifolia* W. Till**, empleando el regulador del crecimiento Bencilaminopurina (BAP), en dosis de 6.25 cc por litro de agua, tres veces por semana durante seis semanas, en comparación al testigo absoluto del vivero, donde se prescinde del uso de cualquier regulador del crecimiento.

Como resultado se tuvo que la Bencilaminopurina fue efectiva para la propagación *in vivo* de la especie epífita ***Tillandsia filifolia* W. Till**, pues con su aplicación se tuvieron 9.23 brotes por planta en comparación a los dos que se obtenían anteriormente en el vivero y se reduce el tiempo de emisión de brotes vegetativos (hijuelos), pues los brotes se tienen a los 135 días de la preparación de las plantas, en comparación a los 225 días que se tarda en condiciones normales para tener únicamente dos brotes por planta.

CAPÍTULO I

DIAGNÓSTICO DE LA PRODUCCIÓN DE ESPECIES DEL GÉNERO *TILLANDSIA* EN EL VIVERO CLAVELA DEL AIRE, S.A.

1.1 PRESENTACIÓN

El diagnóstico se realizó en agosto del año 2005 en las instalaciones que ocupa el vivero Clavela del Aire, S.A., en finca Santa Fe, aldea Sajcavillá, del municipio de San Juan Sacatepéquez, del departamento de Guatemala. El objetivo principal fue determinar la situación actual del manejo agronómico de las especies del género *Tillandsia*, en su contexto dentro del vivero.

Para la realización del diagnóstico se realizaron diversas fases, siendo la primera de ella un acercamiento con el personal del vivero, luego un reconocimiento de las principales especies de plantas producidas, seguido de una descripción del manejo agronómico de las especies del género *Tillandsia*, para luego identificar en consenso con los directivos del vivero cuales eran las principales limitantes en el manejo de la producción de estas especies.

El diagnóstico indicó que desde el punto de vista de la producción de especies del género *Tillandsia*, en el vivero Clavela del Aire, S.A., la principal limitante es la propagación de las mismas, pues el tiempo para la propagación sexual es no menor a cinco años y por medio de la propagación asexual o vegetativa el número de brotes (hijuelos) es muy bajo, teniéndose frecuentemente para la mayoría de especies alrededor de tres brotes (hijuelos) por planta, lo que presupone el uso de gran cantidad de plantas madres para su propagación.

1.2 MARCO REFERENCIAL

1.2.1 Ubicación geográfica donde se desarrolló el trabajo

Para el desarrollo del presente trabajo de graduación se dispuso de dos lugares, ubicados en puntos geográficos distintos. El lugar asignado para la realización del Ejercicio Profesional Supervisado de Agronomía fue el vivero Clavela del Aire, en finca Santa Fe, aldea Sajcavillá, municipio de San Juan Sacatepéquez, departamento de Guatemala; se localiza en el kilómetro 27.50 camino a San Raymundo en las coordenadas 14° 42'28" Latitud Norte y 90°, 37'12" Longitud Oeste. En el vivero se realizó el diagnóstico de la reproducción de las plantas y se ejecutaron los servicios que corresponden a dos investigaciones realizadas en las plantas epífitas ***Guzmania lingulata* (L.) Mez., *Tillandsia filifolia* W. Till** (Bromeliaceae) (6).

1.2.2 Suelos

Los suelos del área que ocupa la finca Santa Fe, donde se localiza el vivero pertenecen a la clasificación número uno, que son suelos de la Altiplanicie Central, predominando la serie de suelos Cauque (Cq), suelos profundos sobre materiales volcánicos a mediana altitud. Difieren principalmente en su elevación y en relieve. Todos se han desarrollado sobre ceniza volcánica pomácea debidamente cementada de color oscuro, con un relieve inclinado a muy inclinado, con buen drenaje interno, están bien adaptados a la producción de productos alimenticios como maíz, frijol, hortalizas y árboles frutales. Además para uso forestal. El suelo superficial es de color café oscuro (7). Sin embargo, los suelos no tienen ninguna influencia en la producción de la *Tillandsia*.

1.2.3 Condiciones climáticas

De la Cruz (2), indica que la finca Santa Fe, se encuentra en la zona de vida Bosque Húmedo Montano Bajo Subtropical. La precipitación anual está comprendida entre los 1,057 a 1,588 mm distribuidos de mayo a noviembre; la temperatura anual media es de 20 °C.

En el Cuadro 1, se presenta la variación mensual de las principales variables climáticas, promedio de los últimos diez años, según la estación climatológica más

cercana (estación 60100) que se encuentra en las coordenadas geográficas 14° 37' 08", Latitud Norte y 90° 39' 40" Longitud Oeste.

Cuadro 1. Precipitación, temperatura y evaporación mensual y anual.

Variable	Medida	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Anual
Precipitación	Milímetros	3.25	3.88	13.11	19.93	122.69	510.39	185.24	201.94	195.18	103.06	41.18	3.99	1403.84
Temperatura media	Grados centígrados	17.83	19.75	20.80	21.57	19.85	19.07	19.17	19.50	18.60	17.48	16.65	17.76	19.06
Temperatura máxima	° C	20.36	21.07	21.86	22.26	21.55	21.09	20.86	20.96	21.06	21.04	20.49	20.30	21.07
Temperatura mínima	° C	4.84	6.45	6.56	8.04	8.93	10.05	9.80	10.04	9.35	8.28	6.75	5.53	7.88
Evaporación tanque	Milímetros	2.45	2.35	2.79	2.55	2.53	2.81	2.93	2.36	2.73	2.09	2.55	2.55	2.59

Fuente: INSIVUMEH (4)

1.2.4 Fuente de agua

La fuente principal para el abastecimiento de agua la constituye un pozo mecánico, del cual se extrae por medio de una bomba hidroneumática y de allí, una red de tubería con llaves de paso conduce el caudal de agua a cada uno de los sombreadores e invernaderos del vivero.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 General

- A. Conocer el manejo general de las plantas epifitas de la familia Bromeliaceae, en el vivero Clavela del Aire, finca Santa Fe, Sajcavillá, San Juan Sacatepéquez, Guatemala, a través de un diagnóstico que permita establecer las principales limitantes en su producción.

1.3.2 Específicos

- A. Describir las principales actividades que se realizan en la producción de especies del género *Tillandsia*.
- B. Identificar las principales limitantes en la producción comercial de especies del género *Tillandsia*.

1.4 METODOLOGÍA

Para la elaboración del presente diagnóstico en términos generales se realizaron los siguientes pasos:

1.4.1 Reconocimiento del vivero

Para ello durante los primeros tres días del Ejercicio Profesional Supervisado de Agronomía se realizaron caminamientos por las distintas instalaciones del vivero a fin de identificarlas en cuanto a su función y al personal vinculado a las mismas.

1.4.2 Reconocimiento de las principales especies producidas

Con la ayuda de personal del vivero, se procedió a reconocer visualmente las principales especies de *Tillandsias* que se producen en la finca, registrando algunas particularidades en cuanto a su manejo.

1.4.3 Descripción del manejo agronómico

Se definieron las prácticas agrícolas del manejo agronómico del cultivo de *Tillandsias*, dentro del vivero Clavela del Aire, S.A., que incluyó la descripción de las cuatro principales fases del manejo como: maternidad, recuperación, clasificación y empaque.

1.4.4 Identificación de las principales limitantes

De las cuatro fases del manejo del cultivo de *Tillandsias*, al momento de su descripción, se enumeraron las acciones que involucró cada fase, luego en conjunto con las principales autoridades del vivero, se estableció, si la acción se realizaba sin dificultad o con dificultad y de las acciones que presentaban algún grado de dificultad para su ejecución, cuales eran las que al vivero, interesaba resolver de acuerdo a la disponibilidad de recursos y tiempo de realización del EPSA.

1.5 RESULTADOS

1.5.1 Principales especies de *Tillandsias* y forma de propagación

En el Cuadro 2, se presentan las principales especies de *Tillandsias* que se producen en el vivero Clavera del Aire, S.A., indicando dentro del tipo de propagación vegetativa, el número de brotes por planta según la especie.

Cuadro 2. Especies de *Tillandsia* y número de brotes producidos vegetativamente en vivero Clavela del Aire, S.A. 2005 (5)

Número	Especie	Brotos por planta
1	<i>Tillandsia caput-medusae</i> Morren	3
2	<i>Tillandsia filifolia</i> W. Till	2
3	<i>Tillandsia argentea</i> W. Till	2
4	<i>Tillandsia brachycaulos</i> Schlechtend	4
5	<i>Tillandsia bergeri</i> Mez	4
6	<i>Tillandsia bulbosa</i> Hook	2
7	<i>Tillandsia butzii</i> Mez	2
8	<i>Tillandsia cacticola</i> L.B. Smith	3
9	<i>Tillandsia capitata</i> Grisebach	3
10	<i>Tillandsia crocata</i> (Morren) Baker	3
11	<i>Tillandsia fasciculata</i> Schwartz	3
12	<i>Tillandsia fuschsii</i> W. Till	3
13	<i>Tillandsia globosa</i> Wawra	4
14	<i>Tillandsia usneoides</i> L.	Muchos (uno por segmento)
15	<i>Tillandsia aeranthos</i> (Loisel) L.B. Smith	3
16	<i>Tillandsia albertiana</i> Veroorst	2
17	<i>Tillandsia cyanea</i> Linden ex K. Koch	4
18	<i>Tillandsia harrisii</i> E. Ehlers	3
19	<i>Tillandsia ionantha</i> var. <i>scaposa</i> L.B. Smith	3
20	<i>Tillandsia juncea</i> (Ruizet Pav.) Poir	3
21	<i>Tillandsia straminea</i> Humboldt & Kühnt	4
22	<i>Tillandsia stricta</i> L.	4
23	<i>Tillandsia tricolor</i> var. <i>Melanocrater</i> L.B. Smith	4

En el vivero Clavela del Aire, S.A., se producen 23 especies de *Tillandsia*. De éstas, las que ocupan la mayor producción son *Tillandsia usneoides* L., *Tillandsia brachycaulos* Schlechtend, y *Tillandsia tricolor* var. *Melanocrater* L.B. Smith.

A. Formas de propagación

En el vivero se emplean las formas de propagación sexual y asexual. La forma de propagación sexual es la más efectiva, pues en general las especies del género *Tillandsia*

pueden producir entre 100 a 1,000 semillas por planta; sin embargo se encuentra con el inconveniente de que toma entre cuatro a seis años para obtener una planta madura. Para que una planta pueda producir nuevos brotes, es necesario que produzca floración, por lo que habrá que esperar otros cinco años para tener entre dos a cinco brotes vegetativos por planta según la especie.

La propagación vegetativa es la más usual en el vivero, ya que cada planta madre tiene capacidad de producir entre dos a cinco hijos según la especie; normalmente las plantas madres florecen una vez por año, con lo cual una vez por año se pueden tener nuevos brotes para su comercialización. Sin embargo la vida útil de las *Tillandsias* puede ser de cuatro años, por lo que en general se puede tener entre 8 y 20 brotes por planta madre de forma vegetativa y luego es descartada.

De todas las especies de *Tillandsia*, la única que se propaga de forma asexual fácilmente es *Tillandsia usneoides* L., las otras especies como se aprecia en el Cuadro 2, su propagación es poco conveniente, pero la opción disponible, pues es necesario disponer alrededor de una cuarta parte del área destinada para las plantas madres por tres cuartas partes para destinar los nuevos brotes, el tiempo requerido para propagarlas y obviamente la gran cantidad de plantas madres necesarias para tener brotes para su comercialización (3).

1.5.2 Fases de la producción y comercialización de las *Tillandsias*

Cuatro fases son las principales en la producción y comercialización de *Tillandsias* en el vivero Clavela del Aire, S.A. La primera fase es la de maternidad, donde se ubican las plantas productoras de los nuevos brotes, la segunda fase es la de recuperación, donde se ubican las plantas no aptas para exportación, la tercera fase es la clasificación donde se ubican las plantas para exportación y finalmente la cuarta fase corresponde al empaque de las plantas exportables.

A. Maternidad

El área de maternidad es donde se ubican las plantas robustas, grandes, libres de plagas y enfermedades, las cuales se someten a inducción floral por medio de aplicaciones de etileno, acetileno, ácido indolacético o más recientemente las aplicaciones de formulaciones de aminoácidos.

A las *Tillandsias* se les aplica aminoácidos a razón de 2.50 cc por litro de agua, por medio de una aspersora; entre la aplicación de los aminoácidos y el siguiente riego deben transcurrir catorce horas a fin de que el producto no sea lavado de la superficie foliar de las plantas.

Según la especie de *Tillandsia*, la floración iniciará entre 30 a 120 días después de la aplicación de los aminoácidos; al estar las plantas floreadas se colocan amarradas de su flor o colgadas en alambres y con un espacio adecuado entre planta y planta que permita libertad al desarrollo de los nuevos brotes (hijuelos). Los nuevos brotes son capaces de sobrevivir por sí mismos cuando ya han alcanzado, al menos, un tercio del tamaño de la planta madre. A menudo al alcanzar este tamaño, ya han comenzado a desarrollar sus propias raíces.

a. Nutrición

Cada quince días se realizan aspersiones de 20N-20P-20K (elementos mayores) a razón de 2.27 gramos por litro de agua y de Mg, S, Fe, Mn, Zn (elementos menores) a razón de 2.50 ml por litro de agua. Estas aplicaciones también se realizan en el área de recuperación y desarrollo; además en el área de recuperación y desarrollo también se realiza una aplicación de calcio-boro a razón de 2.50 ml por litro de agua.

b. Control fitosanitario

En las áreas de maternidad y recuperación o desarrollo para el control de plagas y enfermedades se emplean agroquímicos cuyo intervalo de aplicación depende del grado de expresión de la plaga o enfermedad. En general los más comúnmente empleados y las dosis respectivas son, Fungicidas: Mancozeb (Dithane), Benomyl (Benlate), Metil tiofanato

(Roko), todos a razón de 1.50 cc por litro de agua; Insecticidas: Malatión (Malathión) a razón de 3 cc por litro de agua, Endosulfán (Thiodán) a razón de 2 gr por litro de agua.

B. Recuperación o desarrollo

En el área de recuperación o desarrollo se llevan las *Tillandsias* que no clasifican para exportación por tamaño, forma, color, y alguna enfermedad determinada, aquí se les lleva un control estricto de insecticidas, funguicidas, y fertilizantes foliares a manera de recuperarlas y poder exportar el mayor número de ellas.

C. Clasificación

En el área de clasificación se ubican las plantas seleccionadas para exportación, pudiendo ser brotes (hijuelos) provenientes de maternidad, o brotes provenientes del área de recuperación o desarrollo; las plantas seleccionadas deben estar libres de plagas y enfermedades, tamaños adecuados que varían en un rango de 3 a 45 cm de altura.

D. Empaque

En ésta área se encuentran las plantas que vienen del área de clasificación del vivero de la propia finca, así como de otros viveros que se encuentran ubicados en otras regiones del país, pero que pertenecen a la misma empresa. La apreciación visual para empacar una planta es que se encuentre turgente, de buen color, textura y forma; floreadas o sin flor. Se envuelven en papel periódico y luego se embalan en cajas de cartón que contienen entre 50 a 1,000 plantas de acuerdo al tamaño y la especie.

1.5.3 Limitante principal

La principal limitante a que se enfrenta el vivero Clavela del Aire, S.A., es en lo referente a la propagación de las *Tillandsias*, pues el número de brotes (hijuelos) que se obtiene por planta madre es en todos los casos menor a cinco y en la mayoría de los casos tres brotes por planta los cuales se obtienen de manera asexual, para lo cual se requiere que la planta madre haya llegado a su madurez en un período no menor a cuatro años para que floree (obtención de semilla para propagación sexual) y justo después de la floración se tendrán los brotes vegetativos (propagación asexual); por otro lado existen

restricciones para su extracción de bosques naturales y el vivero cumple con las normativas de Ley como parte de sus principios éticos de producción, conservación y uso sostenible de éste género (1, 3).

1.6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1.6.1 Conclusiones

- A. Las fases del manejo agronómico del cultivo de *Tillandsias* son maternidad, recuperación, clasificación y empaque.
- B. La principal limitante en la producción de *Tillandsias*, es el largo período de tiempo requerido para la propagación, la gran cantidad de plantas madres requeridas y el bajo número de brotes obtenido por planta madre.

1.6.2 Recomendaciones

- A. Para cada una de las especies de *Tillandsia*, del vivero Clavela del Aire, S.A., se recomienda que se evalúen reguladores del crecimiento que incrementen su propagación *in vivo*.
- B. Para cada una de las especies de *Tillandsia*, del vivero Clavela del Aire, S.A., se recomienda que se evalúen metodologías para su propagación *in vitro*, que podrán desarrollarse en colaboración ya sea con el Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), o bien con el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

1.7 BIBLIOGRAFÍA

1. CONAP (Consejo Nacional de Áreas Protegidas, GT). 2001. Listado de especies de flora silvestre amenazadas de extinción (Lista Roja de Flora). Guatemala, Secretaria Ejecutiva Departamento de Vida Silvestre. 130 p.
2. Cruz, JR De la. 1982. Clasificación de zonas de vida de Guatemala, basada en el sistema de Holdridge. Guatemala, Instituto Nacional Forestal. 42 p.
3. Feldhoff Böhm, UM; Orozco Castillo, C; Sagastume Mena, HA. 2005. Propagación *in vivo* e *in vitro* del género *Tillandsia* en vías de extinción y de potencial uso sustentable. Guatemala, CONCYT / ICTA / FAUSAC / FONACYT. 43 p.
4. INSIVUMEH (Instituto Nacional de Sismología, Vulcanología, Meteorología e Hidrología, GT). 2006. Hoja de registro de los datos meteorológicos de la estación la Suiza, Finca La Suiza, San Lucas, Sacatepéquez, Guatemala. Guatemala. 10 p.
5. Klaus, L. 2000. Tillandsien. Deutschland, Sandgrubenweg, Bissendorf-Wulften, Mediaprint Paderborn. 64 p.
6. MAGA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, GT). 2000. Mapas temáticos digitales de la república de Guatemala, a escala 1:250,000. Guatemala. 1 CD.
7. Simmons, CH; Tárano, JM; Pinto, JH. 1959. Clasificación y reconocimiento de los suelos de la república de Guatemala. Trad. por Pedro Tirado Sulsona. Guatemala, José De Pineda Ibarra. 1,000 p.

CAPÍTULO II

INVESTIGACIÓN

**PROPAGACIÓN *IN VITRO* DE LA ESPECIE EPÍFITA *Tillandsia caput-medusae*
(Bromeliaceae) CON FINES DE USO SOSTENIBLE**

**SPREADING *IN VITRO* OF THE EPIFITA SPECIES *Tillandsia caput-medusae*
(Bromeliaceae) FOR THE PURPOSE OF A SUSTAINABLE USE**

2.1 PRESENTACIÓN

La *Tillandsia caput-medusae* Morren se encuentra entre las primeras 5 de las 16 especies de *Tillandsias* más apetecidas, por los países importadores, principalmente en Europa y Japón; presenta la limitante de que su tasa de reproducción vegetativa *in vivo* es muy baja (tres brotes por planta) y la reproducción sexual es efectiva pero se requiere al menos cinco años para que emita flores (1, 2).

El objetivo principal de la presente investigación fue contribuir al desarrollo de una metodología para la propagación *in vitro* de la *Tillandsia caput-medusae* Morren, de potencial uso sostenible, a través de la evaluación de cinco dosis del regulador de crecimiento Bencilaminopurina de 0, 0.5, 1, 1.5 y 2 miligramos por litro de medio de cultivo Murashige y Skoog (11), para lo cual se empleó un diseño completamente al azar con cinco tratamientos y cuatro repeticiones.

Resultado de la investigación se tiene que la mejor dosis de Bencilaminopurina para propagar *in vitro* la *Tillandsia caput-medusae* Morren es de un miligramo de Bencilaminopurina por litro de medio de cultivo Murashige y Skoog, ya que se tienen 22.25 brotes por planta y 42.50 hojas por planta-brote, en comparación al testigo (0 miligramos por litro), donde únicamente se obtuvieron dos brotes por planta. La Bencilaminopurina no tiene efecto significativo sobre la longitud de la planta y sobre el número de raíces por planta.

2.2 MARCO CONCEPTUAL

Las *Tillandsias caput-medusae* Morren, provienen de México y Guatemala, son plantas que se encuentran dentro del grupo de las epifitas: que únicamente adhieren sus raíces a la planta huésped, sin extraer nada de ella y su alimento lo toman del aire, lluvia y materia orgánica que se deposita entre la masa vegetal que forma las raíces y la corteza del árbol huésped (5, 9).

2.2.1 Descripción de la *Tillandsia*

Características: Grisácea, tiene hojas de 7 a 10 centímetros con forma de cucharas, que en su lugar de origen sirven de casa para las hormigas, por eso se denomina planta mirmecofila, es decir que establecen relaciones simbióticas con estos insectos. Las puntas de las hojas están torcidas como culebras que recuerdan a la cabeza de la medusa, el tallo saca de 2 a 7 cápsulas (frutos) alargados dehiscentes en tres valvas, que contienen hasta 120 semillas plumosas, al reventar estas cápsulas salen las flores cilindradas de color azul-violeta. Una de las cualidades de estas plantas es que puede vivir sin mucha agua ya que son plantas vivas y de fácil cuidado. Estas absorben sus nutrientes a través de sus hojas por medio de tricomas, no necesitando de tierra para su normal desarrollo (4, 7).

Crecen en asociación sobre árboles como encinos, pinos y otras coníferas. Época de floración: marzo, abril y mayo.

2.2.2 Clasificación taxonómica de la *Tillandsia* (4)

Reino:	Plantae
Phyllum:	Magnoliophyta
Clase:	Liliopsida
Orden:	Bromeliales
Familia:	Bromeliaceae
Género:	<i>Tillandsia</i>
Especie:	<i>Tillandsia caput-medusae</i> Morren.
Nombre común:	gallito o clavel del aire.

2.2.3 Métodos de propagación

La *Tillandsia caput-medusae* Morren, se propaga por semilla o de forma vegetativa.

A. Propagación por semilla

La propagación por semilla es la más difícil pero la más efectiva, es difícil porque toma un promedio de 4 a 6 años para obtener una planta madura y es efectiva por la gran cantidad de hijos que se puede obtener por cada cápsula de semillas. Se ha estimado que solo una cápsula de semillas puede producir entre 100 a 150 hijos dependiendo de la variedad (4, 7).

B. Propagación vegetativa

La multiplicación por la vía vegetativa es la más usual y cada planta madre tiene capacidad para producir entre 4 y 8 hijos después de la floración, la floración normalmente ocurre una vez en el año. Las plantas madres se seleccionan adecuadamente y se siembran; generalmente cada planta madre puede producir 1 ó 2 hijos en un año y la vida útil de la planta puede ser de 4 años. Para sustituir las madres, de los hijos que no se exportan por algunas limitaciones, se pueden usar como futuras madres (4, 7).

2.2.4 Condiciones ambientales

Para el buen desarrollo de estas plantas es necesario tener bajo un buen control la luz y humedad. La mayor parte de producciones comerciales se efectúa bajo invernaderos que usan en la parte superior sarán que permite un paso de luz del 60 por ciento. Siendo la temperatura adecuada de 15°C a 25°C. Las condiciones óptimas para la multiplicación de estas plantas oscilan entre los 750 y 1,200 metros sobre el nivel del mar, siendo factible obtener plantas vigorosas, sanas y uniformes (4, 7).

2.2.5 Propagación *in vitro* de las *Tillandsias*

Muy pocos trabajos, a nivel mundial, se han realizado con el género *Tillandsia*. Teniendo como ejemplo el siguiente:

Un trabajo de micro propagación fue realizado, como un medio de conservación de especies de origen nativo del género *Tillandsia* y evitar así su extinción. Utilizando embriones inmaduros y, posteriormente, fueron propagados *in vitro*. Con el empleo de esta técnica una gran cantidad de cultivares de *Tillandsia* fueron exitosamente cultivados. Esta técnica también produjo una buena tasa de multiplicación de las plantas regeneradas (7).

2.2.6 Aspectos generales de la regeneración *in vitro*

Al hablar de regeneración, se tienen que considerar algunos aspectos fundamentales relacionados con la teoría celular referidos principalmente a la totipotencialidad de las células vegetales, la organización estructural de cada órgano o tejido en particular, es un efecto de la información genética contenida en cada célula del tejido y cada una de esas células es capaz de expresar su potencial genético para regenerar una planta completa; basándose en esta característica principalmente los investigadores consideraban que si lograban aislar una célula o grupos de ellas se podían desarrollar metodologías *in vitro* manipulando adecuadamente su ambiente. Tales manipulaciones serían causar un estímulo para obtener la diferenciación celular, así la propagación *in vitro* o cultivo de tejidos vegetales consiste en el cultivo de las partes de una planta que pueden ser células, protoplastos o tejidos especializados (explantes) bajo condiciones asépticas en un medio nutritivo y ambiente controlado (13, 15, 17).

A. Cultivo de tejidos

El cultivo de tejidos *in vitro*, consiste en el aislamiento de un explante (parte separada de un vegetal) que se cultiva asépticamente en un medio de composición química definida y se incuba en condiciones ambientales controladas. La interacción de los distintos factores que intervienen en el cultivo de tejidos determinará la respuesta que se obtenga *in vitro* (5).

B. Explante

La elección de un explante apropiado, constituye el primer paso para el establecimiento de los cultivos, lo cual está determinado principalmente por el objetivo

perseguido y la especie vegetal utilizada. En la relación con la especie vegetal utilizada, es importante tener en cuenta la variabilidad asociada con el genotipo de las plantas (12).

2.2.7 Factores que influyen en el cultivo *in vitro*

En los estudios realizados sobre organogénesis, se ha establecido que el éxito depende de tres factores fundamentales: La composición química, las características físicas del medio de cultivo, control del ambiente de cultivo y la elección de explantes.

A. Condiciones ambientales para la incubación

Para propósitos generales se usa en el establecimiento de los cultivos una fuente luminosa compuesta de lámparas fluorescentes y lámparas incandescentes que brinden entre 1000 y 4000 lux de iluminación. Comúnmente se utiliza un ciclo de fotoperiodo de dieciséis octavos y temperaturas entre 25° y 28° C son adecuados (8, 10).

2.2.8 El medio de cultivo

La composición del medio de cultivo es un factor determinante para la organogénesis. los compuestos esenciales son clasificados en cinco grupos: sales minerales, azúcares, vitaminas, reguladores de crecimiento y otros suplementos no definidos (16).

A. Sales minerales

Las sales utilizadas para suplementar los requerimientos de macro y micro nutrientes deben ser consideradas como medio básico, ya que su composición siempre va a permanecer constante. Murashige y Skoog, fueron capaces de identificar los factores de crecimiento y fuentes de sales minerales determinando el medio más adecuado para obtener organogénesis en tejidos de tabaco cultivados *in vitro*. Obtuvieron callo utilizando cortes de medula de tallo aproximadamente de 2 mm orgánicos ajustados y adaptados a los requerimientos más generales de la mayoría de las especies, sin embargo en ocasiones se deben hacer modificaciones en alguno de los constituyentes para satisfacer requerimientos específicos. A través de muchas investigaciones se han generado varias mezclas salinas que contienen micronutrientes como fuentes de carbono, hidrogeno,

oxígeno, calcio, magnesio y azufre, además micronutrientes para una adecuada actividad metabólica siendo los más esenciales: hierro, magnesio, zinc, boro, cobre, cobalto, molibdeno y ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (17, 18).

B. Vitaminas

Son requeridas en pequeñas cantidades actuando catabólicamente en el metabolismo, la que posee mayor importancia es la tiamina en concentraciones de 0.1 a 0.3 mg/L. Las vitaminas tienen un papel importante dentro del sistema enzimático actuando como coenzimas en los diferentes procesos fisiológicos de la planta. Solamente la tiamina es considerada como esencial, mientras que otras como el ácido nicotínico y la piridoxina son agregadas para estimular procesos específicos; sin embargo se incluyen a manera de prevención (17).

C. Reguladores de crecimiento

En micro propagación, principalmente se utilizan citocininas y auxinas como reguladores de crecimiento. Lo más importante es la proporción y cantidad de las mismas.

Para la promoción o inhibición de yemas adventicias y raíces adventicias la jerarquía entre auxinas y citocininas es como sigue:

Promoción:	Citocinina	<i>mayor que la</i>	Auxina
Inhibición:	Auxina	<i>mayor que la</i>	Citocinina (18).

2.2.9 Auxinas

Se utilizan para promover la división celular y la diferenciación de raíces. Normalmente las principalmente empleadas son (18).

IAA	=	Ácido indolacético
NAA	=	Ácido naftalenzacético
IBA	=	Ácido inolbutírico
2,4,-D	=	2,4-ácido 2,4 diclorofenoxiacético.

Las Auxina son sustancias que se caracterizan principalmente para activar el crecimiento. Tienen en general, un papel feminizante en las flores, es decir que permiten que el número de flores femeninas sea mayor. Se utiliza para mejorar el cuajado de frutos como el caso del tomate y berenjena; mejorar el desarrollo de los frutos en circunstancias climáticas desfavorables, principalmente por bajas temperaturas; favorecer el enraizamiento de esquejes en plantas como clavel y alcachofa (18).

A. Efectos biológicos de las auxinas

Desempeñan una función importante en la expansión de las células de tallos y coleóptilos. Las Auxinas fueron descubiertas, estudiando las curvaturas tropísticas de coleóptilos, al poner a un lado de un coleóptilo decapitado un bloque de agar que contenga alguna auxina, se desplaza hacia abajo estimulando la expansión celular provocando una curvatura negativa que se aleja del bloque. Para que un compuesto sea clasificado como auxina, deberá provocar una curvatura negativa en la avena, como lo hace el IAA (18).

Las auxinas estimulan también la división celular, fomentan el desarrollo de callos, de los que se desprenden crecimientos similares a raíces; de este modo son muy eficaces para iniciar la formación de raíces de varias especies vegetales, esta respuesta fue la base de la primera aplicación práctica en agricultura de sustancias en crecimiento. Las auxinas pueden iniciar la floración e inducir el amarre de frutos y su desarrollo en algunas especies. La aplicación de auxinas a frutos jóvenes adelantan la maduración en algunos frutos como los higos (18).

B. Mecanismos de acción de las auxinas

Una de las primeras teorías, de que las auxinas incrementan la plasticidad de las paredes celulares sigue siendo aun mas satisfactoria, aunque es necesario efectuar mas trabajo a fin de revelar cuales son los mecanismos exactos que se encuentran implicados.

El aumento de tamaño de las células se produce en dos etapas, primeramente ocurre un aflojamiento de las paredes celulares (presencia de auxinas y oxígeno), seguido

de una absorción de agua y una expansión en las paredes. En muchas plantas y partes vegetales, las auxinas provocan y fomentan la síntesis de ácido ribonucleico y proteínas lo cual es un requisito previo al crecimiento, provocado por las auxinas (18).

2.2.10 Citocininas

Son sustancias derivadas de la adenina, caracterizadas por su capacidad de intervenir en la división celular y adicionadas al medio de cultivo promueven además, los brotes de yemas y brotes adventicios de órganos (5). Entre las principales citocininas empleadas comúnmente se tienen:

- BA** 6-Benciladenina.
- BAP** 6-Bencilaminopurina
- 2iP** N-Isopentilamina (6).

Pueden ser utilizadas para diferentes funciones como: inducir la partenocarpia de algunos frutos, activar la formación de yemas en hojas separadas de las plantas, y, estimular la pérdida de agua por transpiración en algunas plantas (5, 14).

A. Efectos biológicos de las citocininas

Dos efectos de las citocininas son provocar la división celular y regular la diferenciación de los tejidos cortados. La citocinina es muy necesaria en la iniciación así como en la continuación de la división celular, por ello su disponibilidad ha hecho posible al cultivo de muchos tejidos *in vitro* al añadir tan solo unos compuestos orgánicos necesarios como Sacarosa, tiamina, Mio-inositol y auxinas. Además influyen en la diferenciación de los cultivos, interactúan con las auxinas; en la diferenciación de los cultivos, interactúan con las auxinas para mostrar expresiones diferentes de crecimiento, por ejemplo en cultivo *in vitro*, se ha observado que cambios en el equilibrio entre auxinas y citocininas pueden afectar las expresiones de crecimiento. Otro efecto de las citocininas es retrasar el envejecimiento de los tejidos vegetales, aparentemente los efectos antiscenecentes de las citocininas se deben al mantenimiento de la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos en la oscuridad (18).

B. Mecanismos de acción de las citocininas

Hoy se sabe que las citocininas pueden incorporarse a los ácidos nucleicos en las células. El hecho de que muchas citocininas se hayan aislado a partir de preparados de RNA, indica su relación con los ácidos nucleicos. También se han detectado citocininas en el RNA de transferencia "serina" en el hígado, las levaduras y el RNA de *Escherichia coli* (18).

2.3 OBJETIVOS

2.3.1 General

Contribuir al desarrollo de una metodología que permita la propagación de la especie de *Tillandsia caput-medusae* Morren de potencial uso sostenible.

2.3.2 Específicos

- A. Determinar el efecto de la bencilaminopurina (BAP) sobre la propagación de la especie de *Tillandsia caput-medusae* Morren, a nivel de laboratorio, en cultivo *in vitro*.

- B. Establecer el tratamiento de bencilaminopurina (BAP), que incrementa significativamente el número de brotes, hojas, longitud de planta y número de raíces por planta de *Tillandsia caput-medusae* Morren.

2.4 HIPÓTESIS

- A. La bencilaminopurina (BAP) tiene efecto en la propagación de la *Tillandsia caput-medusae* Morren, en cultivo *in vitro*.

- B. Al menos una dosis de bencilaminopurina (BAP) incrementará el número de brotes, hojas, longitud de la planta y número de raíces.

2.5 METODOLOGÍA

2.5.1 Lugar y época

Se llevó a cabo en el laboratorio de Biotecnología del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícola (ICTA) en convenio con Viveros Clávela del Aire. Dicho trabajo se realizó en el periodo de agosto 2005 a mayo 2006.

2.5.2 Recursos

Asesoría por parte de profesionales y personal técnico del laboratorio del ICTA. El material experimental corresponde a:

Semillas de *Tillandsia caput-medusae*, agua destilada, agitadores, alcohol, bisturís, autoclave, balanza analítica, beakers, agua desmineralizada, estufa con agitación magnética, cámara de flujo laminar, frascos, tubos de cultivo, papel aluminio, pinzas, potenciómetro, toallas de algodón, atomizadores, encendedores, cinta adhesiva, hipoclorito de sodio, papel parafilm, mecheros, reactivos, medio de cultivo de Murashige y Skoog.

2.5.3 Principales procedimientos en la fase *in vitro*

- A. Previo a la siembra de las semillas se procedió a su desinfección, mediante el uso de hipoclorito de calcio al uno por ciento, durante 15 minutos, luego, se lavaron las semillas tres veces, en agua destilada estéril. Se sumergieron en alcohol etílico al 70% durante un minuto, y se lavaron tres veces con agua destilada estéril. Finalmente se procedió a su siembra en el medio de cultivo MS (Murashige y Skoog, 1962), a la mitad de su concentración (Apéndice 1).
- B. Para la preparación del medio de cultivo Murashige y Skoog primero se agregaron 200 ml de agua destilada en un earlenmeyer de 1,000 ml de capacidad, se agregaron 100 ml de sales, 10 ml de MgSO₄, 5 ml de Hierro, 10 ml de vitaminas y 100 mg de inositol. La solución se aforó hasta llegar a un 1000 ml. Luego se agregaron 20 gramos de sacarosa y se ajustó el pH a 5.8; posteriormente se agregó 5 gr de Agar Merck, luego se calentó en estufa aproximadamente durante 45 minutos hasta que se disolvió el agar.

- C. Una vez germinadas las semillas (alrededor de 55 días) se procedió a la evaluación de los tratamientos para la propagación de las plántulas. Se evaluaron cinco tratamientos en la fase *in vitro*, los cuales fueron los que se indican en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Tratamientos evaluados

Tratamiento	Dosis de Bencilaminopurina (mg/L) adicionado al medio Murashige y Skoog
1	0 (testigo)
2	0.5
3	1.0
4	1.5
5	2.0

- D. Por cada tratamiento se sembraron 4 plántulas (repeticiones), cada una en tubos de ensayo.
- E. Los tratamientos se dispusieron en las cámaras de incubación con una fuente luminosa compuesta de lámparas fluorescente y lámparas incandescentes con 3000 lux de iluminación, con una temperatura de 25 grados centígrados.

2.5.4 Diseño experimental

En el experimento de cultivo *in vitro*, el diseño experimental que se empleó fue el de una distribución Completamente al Azar, con cinco tratamientos y cuatro repeticiones.

$$Y_{ij} = \mu + B_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = variable de respuesta de la ij-ésima unidad experimental

μ = efecto de la media general de la población

B_i = efecto de la i-ésima dosis de BAP

ϵ_{ij} = error asociado a la ij-ésima unidad experimental

2.5.5 Unidad experimental

La unidad experimental fue un tubo de ensayo con 3 ml de medio de cultivo (según el tratamiento respectivo) y una plántula de *Tillandsia caput-medusae* Morren.

2.5.6 Variables de respuesta

Las variables de respuesta se midieron cada 30 días a partir de la siembra, realizando cuatro lecturas a los 30, 60, 90 y 120 días después de la siembra fueron:

- A. Longitud de planta:** medida en centímetros desde la base hasta el ápice de la hoja.
- B. Número de brotes:** contados a través del estereoscopio en unidades.
- C. Número de hojas por planta-brote:** se contaron las cinco hojas iniciales de la planta madre más las nuevas hojas que fueron formando los brotes en cada frasco.
- D. Número de raíces:** se contó las raíces por planta, pues los brotes no emitieron raíces durante la fase de ensayo

2.5.7 Análisis estadístico

Para los datos que se obtuvieron de cada una de las variables de respuesta se hizo una prueba de normalidad por medio de la prueba de Shapiro-Wilk. Para las variables de respuesta que tuvieron una distribución de frecuencia normal se realizó un análisis de varianza (ANDEVA). Las variables que resultaron con diferencias estadísticas significativas al 5%, se les hizo una prueba de separación de medias, por medio de la prueba de Tukey.

2.5.8 Boleta de toma de datos

El modelo de la boleta de toma de datos empleada para cada tratamiento y fecha de muestreo se presenta en el apéndice 2.

2.6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de las semillas de *Tillandsia caput-medusae* Morren, se obtuvo el material (plantitas) para conducir el ensayo de evaluación de dosis de bencilaminopurina para la formación de brotes (hijos) (Figura 1).

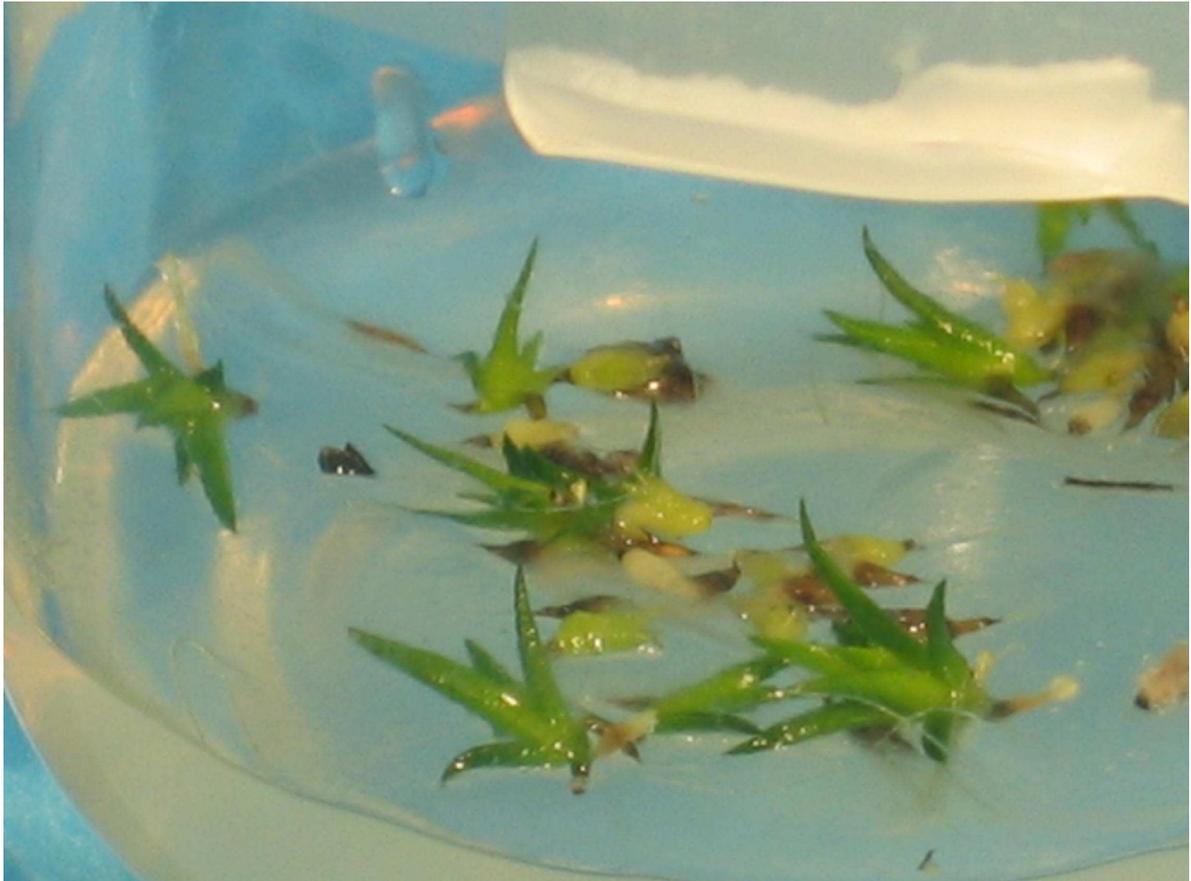


Figura 1. Material para la propagación *in vitro* de *Tillandsia caput-medusae* Morren.

Puede apreciarse los restos plumosos (adheridos a la testa) que quedaron después que las semillas germinaron; también se observa las nuevas plantitas de *Tillandsia caput-medusae* Morren, de las cuales se seleccionaron aquellas que tuvieran cinco hojas para la fase de propagación *in vitro* para la obtención de brotes. Vale la pena mencionar que al momento de la siembra de las semillas en el medio de cultivo es difícil contar la

cantidad inicial de semillas puesto que se encuentran enrolladas unas a otras por las plumosidades de la testa y al tratar de separarlas sufren daño en su estructura.

Las unidades experimentales (tubos como medio de cultivo y explante), dispuestas en la cámara de incubación se aprecian en la Figura 2.



Figura 2. Distribución de los tratamientos, y formación de nuevos brotes y hojas durante el ensayo.

Durante el ensayo se notaron las diferencias entre los tratamientos, en conjunto puede apreciarse que en cada unidad experimental, de acuerdo al tratamiento, se formaron nuevos brotes así como también de los nuevos brotes empezaron a surgir nuevas hojas y también se formaron nuevas hojas de la planta madre o explante inicial.

A simple vista el conteo de brotes no fue posible, por lo cual se tuvo que valer de un estereoscopio a fin de realizar esta actividad (Figura 3).

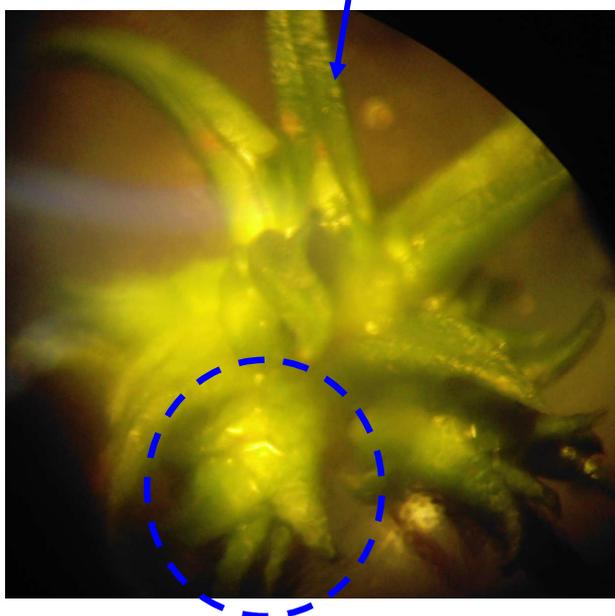


Figura 3. Investigador epesista de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, durante la toma de datos del número de brotes, número de hojas, longitud de planta y número de raíces, a los 30, 60, 90 y 120 días después de la siembra.

2.6.1 Número de brotes por planta de *Tillandsia caput-medusae* Morren

Los datos de laboratorio del número de brotes obtenidos en cada una de las cuatro lecturas por tratamiento y repetición se presentan en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Número de brotes por planta de *Tillandsia caput-medusae* Morren

		Días después de la siembra				
		Repetición	30	60	90	120
TRATAMIENTOS EVALUADOS	T1 (0 mg/L)	1	1	2	2	2
		2	2	3	3	3
		3	1	1	1	1
		4	1	2	2	2
	T2 (0.5 mg/L)	1	1	15	15	15
		2	8	18	18	18
		3	6	18	20	20
		4	5	18	18	18
	T3 (1.0 mg/L)	1	6	21	21	21
		2	2	18	18	18
		3	10	24	25	25
		4	12	26	26	26
	T4 (1.5 mg/L)	1	10	12	15	15
		2	12	18	18	18
		3	10	22	23	23
		4	8	22	22	22
	T5 (2.0 mg/L)	1	7	14	14	14
		2	8	15	15	15
		3	5	10	11	11
		4	1	8	5	5

En el Cuadro 5 se presenta la síntesis de los análisis de varianza (ANDEVA), así como la síntesis de la prueba de normalidad de Shapiro Wilks, para cada una de las cuatro lecturas realizadas para la variable de respuesta brotes por planta de *Tillandsia caput-medusae* Morren.

Cuadro 5. Síntesis de la prueba de normalidad y ANDEVAS para la variable brotes por planta en cada una de las cuatro lecturas.

Lectura	Shapiro Wilks		ANDEVA			Pr>F	Observación
	W Normal	Pr<W	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F calculada		
30 dds	0.951	0.3957	168.7	42.175	5.16	0.0081	Tratamientos distintos
60 dds	0.9507	0.39	989.3	247.325	25.54	0.0001	Tratamientos distintos
90 dds	0.93511	0.204	1065.3	266.325	25.36	0.0001	Tratamientos distintos
120 dds	0.93511	0.204	1065.3	266.325	25.36	0.0001	Tratamientos distintos

dds = días después de la siembra

Los datos del número de brotes por planta a los 30, 60, 90 y 120 días después de la siembra de las plantas se ajustan a una distribución normal de los residuos puesto que en los cuatro casos el $Pr < W$ fue mayor a 0.05; así mismo, durante las cuatro lecturas se presentaron diferencias en el número de brotes por planta según la dosis de BAP (Bencilaminopurina) utilizada. Importante es notar que el resumen del ANDEVA del número de brotes a los 90 y 120 días después de la siembra, manifiesta la suma de cuadrados, los cuadrados medios y la F calculada iguales, lo cual se debe a que el número de brotes en cada una de las 20 unidades experimentales fue exactamente igual, es decir de los 90 a los 120 días no se formó ningún nuevo brote.

A. Brotes por planta a los 30 días después de la siembra

En la Figura 4 se presenta el número de brotes por planta según la dosis de bencilaminopurina aplicado al medio de cultivo Murashige y Skoog.

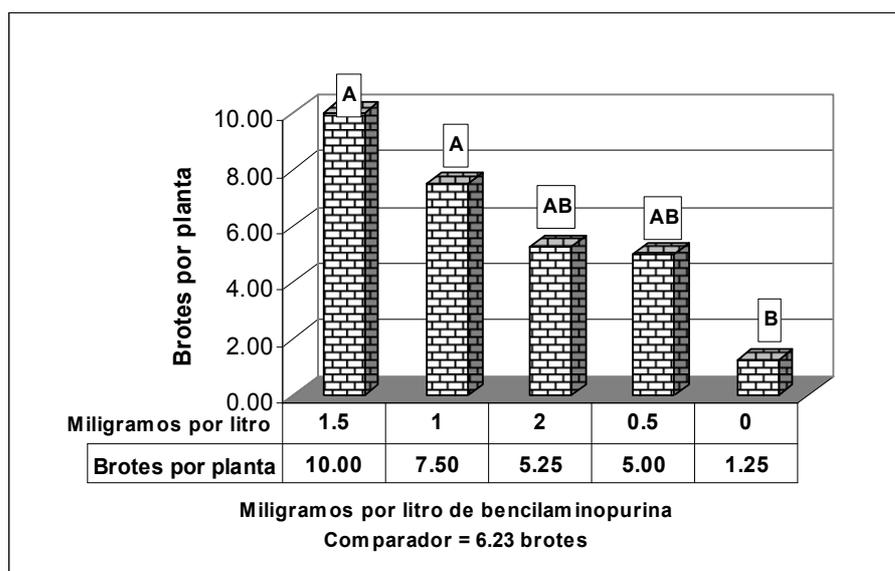


Figura 4. Resumen de Tukey para el número de brotes por planta de *Tillandsia caput-medusae* Morren, a los 30 días después de la siembra en cultivo *in vitro*.

En el medio de cultivo Murashige y Skoog, donde no se aplicó el regulador de crecimiento Bencilaminopurina, se tuvieron 1.25 brotes por planta a los 30 días después de la siembra, siendo estadísticamente igual este resultado a los tratamientos con 0.5 y 2 mg/L de BAP. La mejor respuesta se tuvo al aplicar al medio de cultivo 1.5 y 1 mg/L de BAP, pues con ello se tuvo 10 y 7.50 brotes por planta respectivamente.

De acuerdo a la Figura 4 se puede apreciar que a los 30 días después de la siembra, el mejor resultado es emplear una dosis media de BAP entre 1 y 1.5 mg/L, pues al emplear dosis menores como de 0.5 mg/L el número de brotes disminuye, así como también disminuye al aplicar dosis más altas como de 2 mg/L, obteniéndose en ambos casos alrededor de 5 brotes por planta.

Según los resultados obtenidos se puede afirmar que la citocinina empleada, fue capaz de provocar la división celular y regular la diferenciación de los tejidos de *Tillandsia caput-medusae*, a fin de estimular la formación de brotes. Este hallazgo es importante, pues en condiciones de campo abierto únicamente es posible obtener entre 1 a 3 hijos (brotes) por planta y con el uso del BAP a 1.5 mg/L a los 30 días ya es posible triplicar esta cantidad hasta un promedio de 10 brotes por planta.

B. Brotes por planta a los 60 días después de la siembra

En la Figura 5, se presenta el número de brotes por planta a los 60 días después de la siembra.

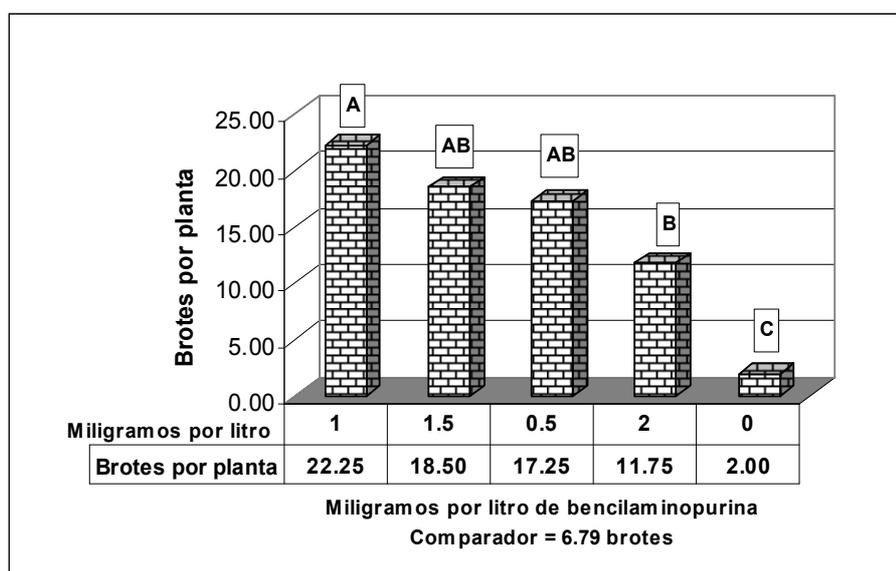


Figura 5. Resumen de Tukey para el número de brotes por planta de *Tillandsia caput-medusae* Morren, a los 60 días después de la siembra en cultivo *in vitro*.

A los 60 días después de la siembra la mejor dosis de bencilaminopurina fue de un miligramo por litro pues con ella se obtuvieron 22.25 brotes por planta, estadísticamente este valor es igual a los 18.50 y 17.25 brotes por planta obtenido con la aplicación de 1.5 y 0.5 miligramos por litro de bencilaminopurina, pues entre ellos no superan la diferencia mínima del comparador entre tratamientos de Tukey que fue de 6.79 brotes por planta. En general puede decirse que la cantidad de brotes de los 30 a los 60 días después de la siembra se duplicó en los cinco tratamientos evaluados.

C. Brotes por planta a los 90 y 120 días después de la siembra

El número de brotes por planta a los 90 y 120 días después de la siembra se presenta en la Figura 6.

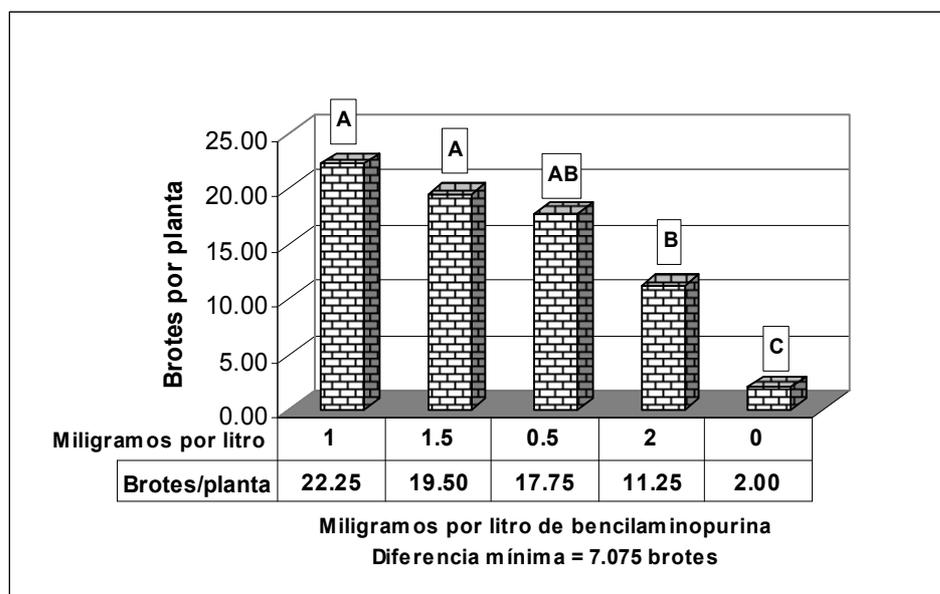
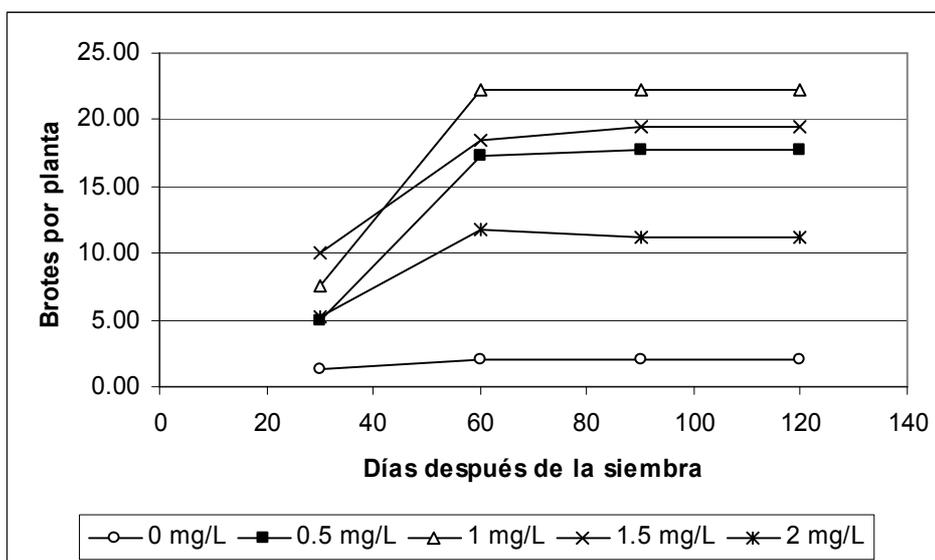


Figura 6. Resumen de Tukey para el número de brotes por planta de *Tillandsia caput-medusae* Morren, a los 90 y 120 días después de la siembra en cultivo *in vitro*.

Entre los 90 y 120 días después de la siembra, el número de brotes por planta no aumentó, sino que se mantuvo constante, lo cual puede deberse a la capacidad generadora de brotes que tenga una planta según la dosis de bencilaminopurina suministrada y a la disponibilidad de espacio, luz y nutrientes que pudiera proveer el tubo de ensayo donde se encontraba la planta madre.

Es importante indicar también que de los 60 a los 90 días después del trasplante únicamente los tratamientos con 0.5 y 1.5 miligramos por litro de bencilaminopurina incrementaron la media de brotes muy levemente en menos de una unidad durante estos 30 días; los tratamientos sin bencilaminopurina y con 1 miligramo por litro de bencilaminopurina, desde los 60 días después del trasplante ya no incrementaron el número de brotes y el tratamiento con 2 miligramos por litro de bencilaminopurina, incluso redujo la media de brotes por problemas ya de oxidación tal como se puede apreciar en la Figura 7.



mg/L = miligramos por litro

Figura 7. Incremento del número de brotes por planta a través del tiempo, según la dosis de bencilaminopurina empleada.

De acuerdo a lo observado en la Figura 7, es posible identificar que para la propagación *in vitro* de *Tillandsia caput-medusae* Morren, el tiempo recomendable máximo para la obtención de brotes es de 60 días después de la siembra, puesto que después de ello ya no se obtienen nuevos brotes de manera significativa. También de acuerdo al comportamiento de las líneas que identifican a cada dosis de bencilaminopurina y a los resúmenes de las pruebas de Tukey visto en los incisos anteriores se recomienda como mejor dosis la de un miligramo por litro de bencilaminopurina, con obtención de 22.25 brotes por planta a los 60 días después de la siembra.

2.6.2 Número de hojas por planta-brote

Los resultados del número de hojas por planta-brote obtenidos en cada unidad experimental en cada una de las cuatro lecturas a los 30, 60, 90 y 120 días después de la siembra se presentan en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Número de hojas por planta-brote de *Tillandsia caput-medusae* Morren

		Días después de la siembra				
		Repetición	30	60	90	120
TRATAMIENTOS EVALUADOS	T1 (0 mg/L)	1	8	10	15	15
		2	12	15	18	18
		3	10	10	14	14
		4	10	14	14	15
	T2 (0.5 mg/L)	1	15	18	20	36
		2	11	18	28	40
		3	16	22	30	42
		4	16	22	28	40
	T3 (1.0 mg/L)	1	14	16	32	39
		2	16	16	27	37
		3	15	28	38	46
		4	17	30	42	48
	T4 (1.5 mg/L)	1	14	14	26	32
		2	16	16	28	36
		3	17	16	36	42
		4	15	18	32	36
	T5 (2.0 mg/L)	1	12	16	19	22
		2	8	10	12	12
		3	10	15	15	18
		4	10	10	12	14

mg/L = miligramos por litro

En el Cuadro 7 se presenta la síntesis de los análisis de varianza (ANDEVA), así como la síntesis de la prueba de normalidad de Shapiro Wilks, para cada una de las cuatro lecturas realizadas para la variable de respuesta número de hojas por planta-brote de *Tillandsia caput-medusae* Morren.

Cuadro 7. Síntesis de la prueba de normalidad y ANDEVAS para la variable número de hojas por planta-brote en cada una de las cuatro lecturas

Lectura	Shapiro Wilks		ANDEVA			Pr>F	Observación
	W Normal	Pr<W	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F calculada		
30 dds	0.934	0.2022	130.8	32.7	11.41	0.0002	Tratamientos distintos
60 dds	0.95397	0.4413	321.7	80.425	4.89	0.01	Tratamientos distintos
90 dds	0.983069	0.9537	1321.7	330.425	16.94	0.0001	Tratamientos distintos
120 dds	0.946417	0.3281	2724.8	681.2	45.82	0.0001	Tratamientos distintos

dds = días después de la siembra

Cada planta de *Tillandsia caput-medusae* Morren, fue previamente seleccionada para que al momento de la siembra tuviera cinco hojas, luego, conforme los brotes fueron desarrollando también formaron hojas y de la misma planta madre también se formaron otras hojas por lo que el número de hojas se refiere al total aportado por el conjunto planta-brote.

En cada una de las cuatro lecturas realizadas el número de hojas por planta-brote fue estadísticamente distinto, es decir que cada dosis de bencilaminopurina ofreció un número distinto de hojas en cada lectura. La prueba de Shapiro-Wilks, demuestra que los datos de cada una de las cuatro lecturas se ajustan a una distribución normal puesto que en los cuatro casos la $Pr < W$ fue mayor a 0.05

A. Número de hojas por planta-brote a los 30 días después de la siembra

El número de hojas por planta-brote de *Tillandsia caput-medusae* Morren, a los 30 días después de la siembra se presenta en la Figura 8.

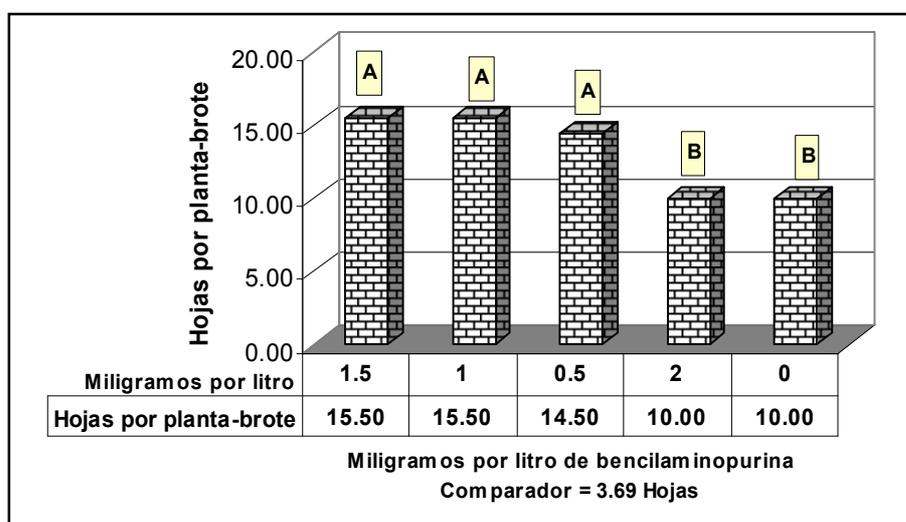


Figura 8. Resumen de Tukey para el número de hojas por planta-brote de *Tillandsia caput-medusae* Morren, a los 30 días después de la siembra en cultivo *in vitro*

A los 30 días después de la siembra de cultivo *in vitro*, se tenía que la dosis de 1.5, 1 y 0.5 miligramos por litro de bencilaminopurina propiciaron el mayor número de brotes por planta con más de 14 hojas, es decir dos veces más de la cantidad inicial de cinco

hojas, con lo cual ocuparon el primer lugar estadísticamente con una confianza del 95 por ciento. Al no aplicar el regulador de crecimiento y aplicarlo en dosis de 2 miligramos por litro la cantidad de hojas por planta aumentó al doble ocupando estadísticamente el segundo lugar.

B. Número de hojas por planta-brote a los 60 días después de la siembra

En la Figura 9 se presenta el número de hojas por planta-brote de *Tillandsia caput-medusae* Morren, a los 60 días después de la siembra.

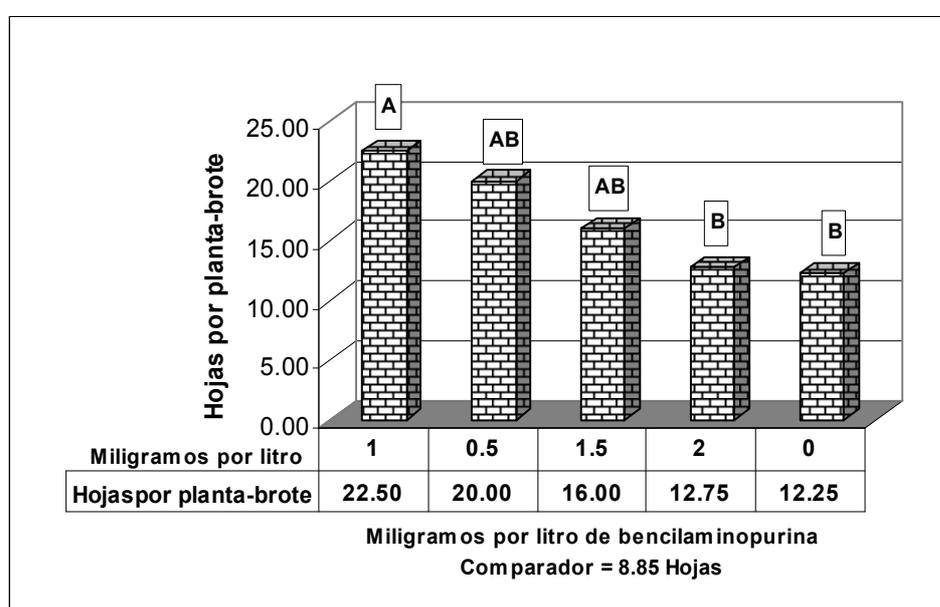


Figura 9. Resumen de Tukey para el número de hojas por planta-brote de *Tillandsia caput-medusae* Morren, a los 60 días después de la siembra en cultivo *in vitro*.

De los 30 a los 60 días después de la siembra, con la dosis de 0.5 y 1 miligramos por litro de bencilaminopurina, el aumento de hojas fue escaso con no más 6 hojas en cada tratamiento hasta aumentar alrededor de 20 a 22 hojas respectivamente, a excepción del tratamiento con dosis de 1.5 miligramos por litro de bencilaminopurina que fue de menos de 0.5 hojas en promedio y para los tratamientos con 2 miligramos por litro de bencilaminopurina y donde no se aplicó, el aumento del número de hojas fue de alrededor de 2.5 hojas promedio hasta llegar a 12.75 hojas por planta-brote

La razón de lo anterior puede deberse a que fue en este período donde se alcanzó el máximo número de brotes por planta (Figura 5), concentrándose la actividad anabólica especialmente en los brotes, pues como se verá en el inciso siguiente de los 60 a los 90 días el número de hojas aumentó en mayor proporción.

C. Número de hojas por planta-brote a los 90 días después de la siembra

El número de hojas por planta-brote de *Tillandsia caput-medusae* Morren, a los 90 días después de la siembra, se presenta en la Figura 10.

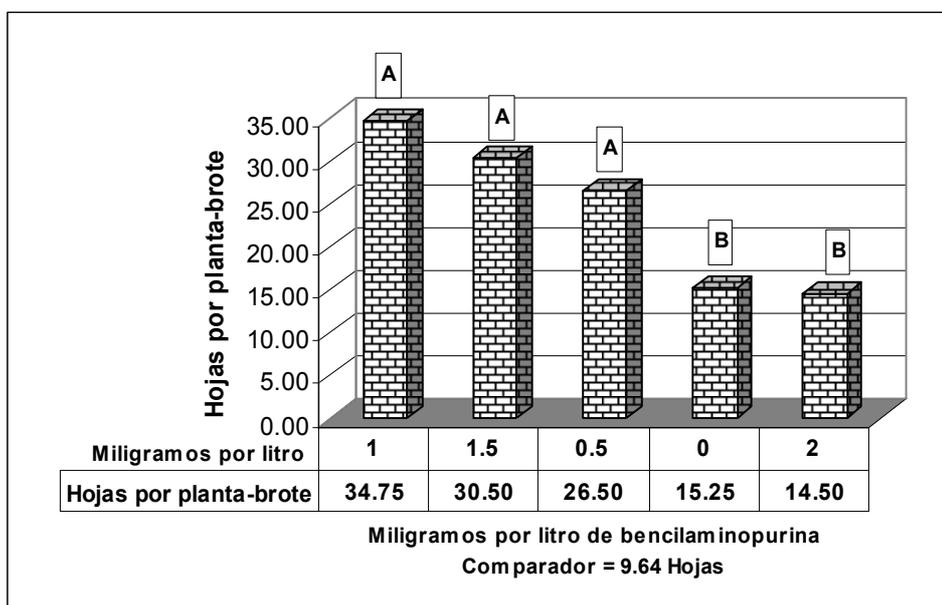


Figura 10. Resumen de Tukey para el número de hojas por planta-brote de *Tillandsia caput-medusae* Morren, a los 90 días después de la siembra en cultivo *in vitro*.

En esta etapa ya estaban formados la mayoría de brotes en cada una de las unidades experimentales y cada uno de éstos brotes inició la formación de hojas, razón por la cual se aprecia que de los 60 a los 90 días después de la siembra el número de hojas aumentó en buena proporción pues de alrededor de 22 hojas por planta aumentó otras diez hojas más hasta llegar a alrededor de 32 hojas por planta al menos para los tratamientos donde se adicionó dosis de 1 y 1.5 miligramos por litro de bencilaminopurina, pues como se aprecia los tratamientos con dosis de 2 miligramos por litro de bencilaminopurina y donde no se aplicó bencilaminopurina, el incremento fue muy escaso

hasta alcanzar alrededor de 15 hojas por planta-brote, lo cual está muy relacionado con la baja cantidad de brotes en estos tratamientos.

D. Número de hojas por planta-brote a los 120 días después de la siembra

El número de hojas por planta-brote de *Tillandsia caput-medusae* Morren, a los 120 días después de la siembra se presenta en la Figura 11.

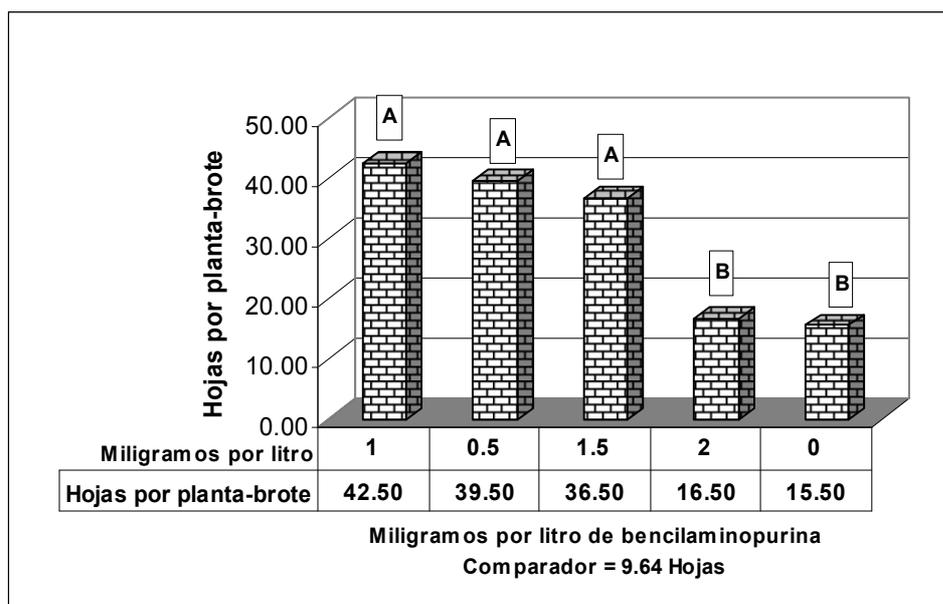
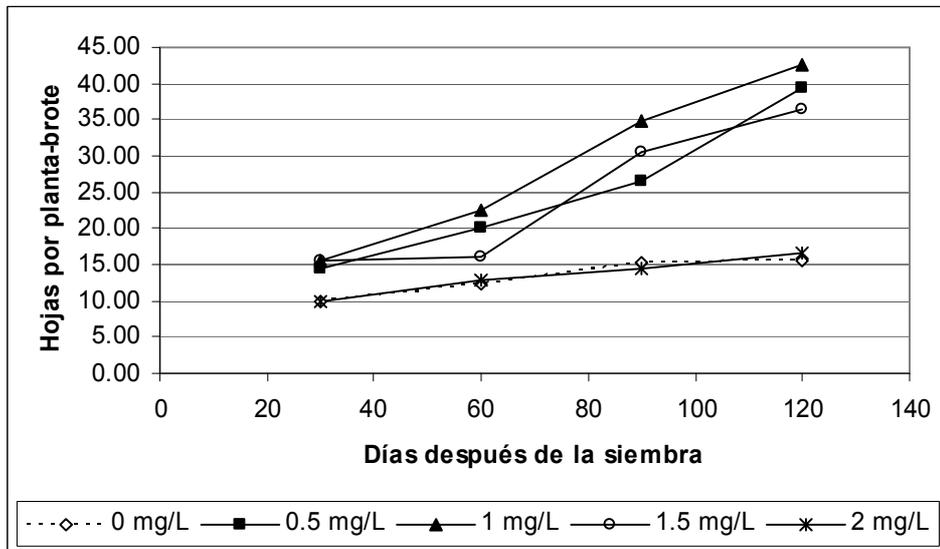


Figura 11. Resumen de Tukey para el número de hojas por planta-brote de *Tillandsia caput-medusae* Morren, a los 120 días después de la siembra en cultivo *in vitro*.

Contrario al número de brotes por planta, que desde los 90 a los 120 días después de la siembra no se incrementó, el número de hojas por planta si continuó en aumento, manteniéndose siempre la tendencia que los tratamientos que presentaron el mayor número de hojas por planta fueron los de dosis bajas de bencilaminopurina con 0.5 y 1 miligramo por litro, en tanto donde no se usó bencilaminopurina y donde se usó en la dosis más alta evaluada de 2 miligramos por litro, se presentó el menor número de hojas, el cual prácticamente no aumentó ostensiblemente, pues desde los 30 hasta los 120 días se logró un incremento de alrededor de 5 hojas por planta-brote.

Para visualiza de mejor manera el comportamiento del incremento del número de hojas a través del tiempo se presenta la Figura 12.



mg/L = Miligramos por litro

Figura 12. Incremento del número de hojas por planta-brote de *Tillandsia caput-medusae* Morren, a través del tiempo.

En la Figura 12, se aprecia que los tratamientos donde no se empleó bencilaminopurina y donde se aplicó a razón de 2 miligramos por litro, presentaron la menor pendiente, es decir la menor tasa de incremento. Luego de los tres tratamientos restantes el que presenta la mayor pendiente es donde se aplicó la dosis de un miligramo por litro de bencilaminopurina, la cual se explica por el modelo siguiente:

$$\text{Hojas por planta-brote} = 0.3108 (\text{días}) + 5.5 \quad R^2 = 0.9889$$

Entonces, de acuerdo a la fórmula, se tiene que por cada día transcurrido, la planta-brote presenta 0.31 hojas, lo que aproximadamente equivaldría a decir que por cada tres días y medio transcurridos se tendrá una nueva hoja (1.08 hojas) por planta-brote.

Para tener una idea mejor visualizada del ensayo, se presenta la Figura 13, donde se muestra el tubo de ensayo con *Tillandsia caput-medusae* Morren.

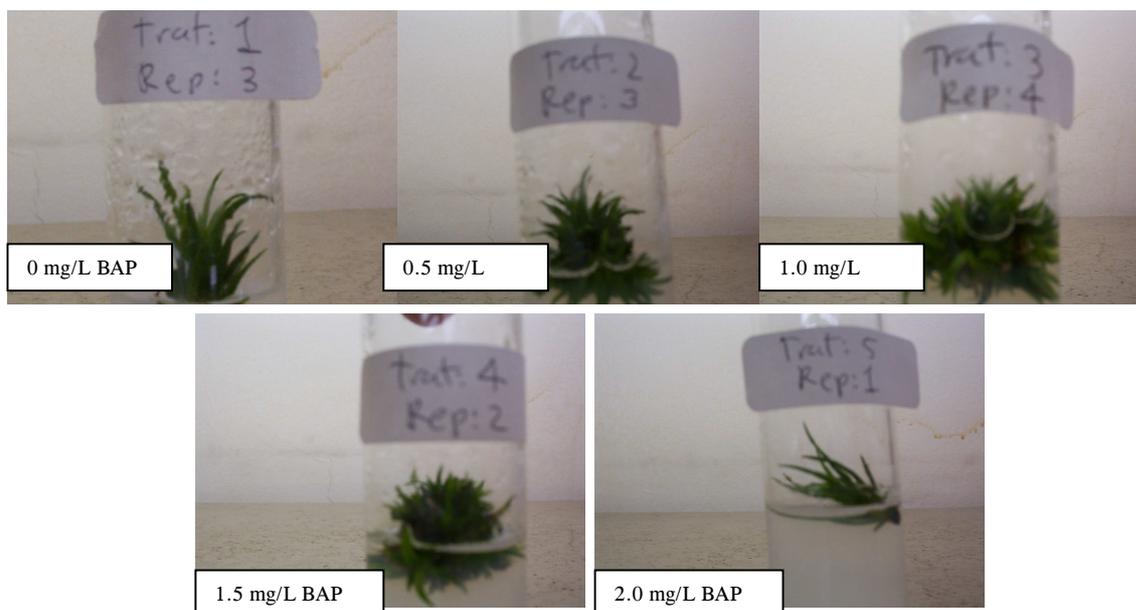


Figura 13. Vista de cada uno de los tratamientos con *Tillandsia caput-medusae* Morren.

En cada tubo de ensayo se aprecia el conjunto de la planta *Tillandsia caput-medusae* Morren, con sus brotes y las hojas que formaron cada nuevo brote; de esta forma es poco perceptible distinguir los brotes individuales; no así la cantidad de hojas emitidas de los nuevos brotes. Nótese que la dosis de 0 y 2 miligramos por litro de bencilaminopurina presentan escasas hojas (alrededor de 15 por tratamiento), en comparación a los tratamientos donde se aplicó 0.5, 1 y 1.5 miligramos por litro de bencilaminopurina que al estereoscopio presenta más de 35 hojas en cada tratamiento.

2.6.3 Longitud de planta en centímetros

La longitud promedio en centímetros, que obtuvo *Tillandsia caput-medusae* Morren, en cada tratamiento y para cada una de las cuatro lecturas realizadas se presenta en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Longitud de *Tillandsia caput-medusae* Morren en centímetros

		Días después de la siembra				
		Repetición	30	60	90	120
TRATAMIENTOS EVALUADOS	T1 (0 mg/L)	1	1.8	2.10	2.80	2.80
		2	2.0	2.50	3.00	3.00
		3	2.1	2.50	2.80	2.80
		4	2.0	2.50	3.00	3.00
	T2 (0.5 mg/L)	1	1.7	2.20	3.00	3.00
		2	1.9	2.20	3.00	3.00
		3	2.2	2.30	3.00	3.00
		4	2.0	2.10	3.00	3.00
	T3 (1.0 mg/L)	1	2.0	2.10	3.10	3.10
		2	2.1	2.00	3.00	3.00
		3	2.2	2.50	2.90	2.90
		4	1.9	2.40	3.00	3.00
	T4 (1.5 mg/L)	1	1.9	2.50	3.00	3.00
		2	1.8	2.50	3.00	3.00
		3	2.0	2.50	3.10	3.10
		4	2.0	2.60	3.00	3.00
	T5 (2.0 mg/L)	1	2.1	2.50	2.80	2.80
		2	2.0	2.20	3.00	3.00
		3	1.8	2.30	2.90	2.90
		4	1.9	2.10	2.80	2.80

mg/L = miligramos de bencilaminopurina por litro de solución

En el Cuadro 9 se presenta la síntesis de los análisis de varianza (ANDEVA), así como la síntesis de la prueba de normalidad de Shapiro Wilks, para cada una de las cuatro lecturas realizadas para la variable de respuesta longitud promedio de planta *Tillandsia caput-medusae* Morren en centímetros.

Cuadro 9. Síntesis de la prueba de normalidad y ANDEVAS para la variable longitud de la planta en centímetros en cada una de las cuatro lecturas.

Lectura	Shapiro Wilks		ANDEVA			Pr>F	Observación
	Normal	Pr<W	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F calculada		
30 dds	0.977948	0.8886	0.037	0.009	0.45	0.7675	Tratamientos iguales
60 dds	0.970731	0.7604	0.277	0.06925	2.56	0.0812	Tratamientos iguales
90 dds	0.913354	0.0775	0.073	0.01825	2.88	0.0592	Tratamientos iguales
120 dds	0.913354	0.0775	0.073	0.01825	2.88	0.0592	Tratamientos iguales

dds = días después de la siembra

Los datos de cada una de las cuatro lecturas se ajustaron a una distribución normal ($Pr < W$ fue mayor a 0.05); sin embargo, en cada una de las cuatro lecturas no se presentaron diferencias significativas entre la altura de las plantas ($Pr > F$ fue mayor a 0.05), por lo tanto únicamente se presenta en el Cuadro 10, la altura promedio obtenida por tratamiento y el promedio de los cinco tratamientos por lectura.

Cuadro 10. Longitud promedio de plantas de *Tillandsia caput-medusae* Morren, en cada tratamiento y por cada lectura.

mg/L BAP	Días después de la siembra			
	30	60	90	120
0	1.98	2.4	2.9	2.9
0.5	1.95	2.2	3	3
1	2.05	2.25	3	3
1.5	1.93	2.52	3.025	3.025
2	1.95	2.27	2.88	2.88
Promedio	1.97	2.33	2.96	2.96

Todas las plantas en promedio iniciaron con una longitud de 1.97 centímetros, la cual fue aumentando hasta llegar a una altura de 2.96 centímetros a los 120 días después de la siembra es decir que ganaron alrededor de un centímetro de altura.

2.6.4 Número de raíces por planta

Para esta variable de respuesta no se realizó análisis de varianza, puesto que todas las plantas que se sembraron inicialmente tenían dos raíces y luego a través del tiempo del ensayo el número de raíces se mantuvo siendo siempre de dos raíces por planta al final del ensayo. Es probable que esto se deba a que las raíces de esta especie únicamente le sirven de sostén a la planta.

2.7 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

2.7.1 Conclusiones

- A. En el cultivo *in vitro* de la ***Tillandsia caput-medusae* Morren** no se encontró efecto significativo de la aplicación de la bencilaminopurina en la longitud de la planta y el número de raíces por planta.
- B. La mejor dosis para la propagación *in vitro* de ***Tillandsia caput-medusae* Morren**, es la de un miligramo de bencilaminopurina por litro de medio de cultivo, puesto que permite obtener hasta 22.25 brotes por planta y 42.50 hojas por planta-brote.
- C. A partir de los 60 días después de la siembra, ya no se incrementa significativamente el número de brotes por planta; sin embargo el número de hojas por planta continúa en aumento a razón de una hoja formada por cada tres días y medio.

2.7.2 Recomendaciones

- A. Para la propagación *in vitro* de ***Tillandsia caput-medusae* Morren** se recomienda emplear el medio de cultivo Murashige y Skoog con adición de 1 miligramo de bencilaminopurina por litro de solución, puesto que con este tratamiento se obtiene el mayor número de brotes por planta siendo de 22.25 brotes por planta.
- B. Se recomienda que la propagación *in vitro* de ***Tillandsia caput-medusae* Morren**, no se extienda más de 60 días, puesto que después de este tiempo el número de brotes no aumenta significativamente.

2.8 BIBLIOGRAFÍA

1. AGEXPRONT (Asociación Gremial de Exportadores de Productos no Tradicionales, GT). 2001. National directory of exporters of ornamental plants, foliage and flowers, Guatemala. Guatemala. 77 p.
2. BANGUAT (Banco de Guatemala, GT). 2005. Estadísticas de exportación por rubro: 1994-2002. Consultado 10 set 2005. Disponible en: <http://www.banguat.gob.gt/estaeco/>
3. Betancur, J; Jaramillo, MA. 1998. Distribución de la familia Bromeliaceae en dos vertientes andinas del sur de Colombia. *Selbyana* 19(1):52-65.
4. García, N; Betancur, J. 2002. Dos especies nuevas de *Tillandsia* (Bromeliaceae) de la cordillera oriental de Colombia. *Caldasia* 24(1):1-7.
5. ICTA (Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas, GT); JOCV (Japanese Organization Corp of Voluntern, JP). 1996. Principios básicos del cultivo de tejidos vegetales. Guatemala. 165 p.
6. Hernández T, MA. 2000. Respuesta de la planta zarzaparrilla *Smilax moranensis* Mortens y Galiotti al cultivo de tejidos *in vitro*. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 77 p.
7. Huertas, GM; Dix, M; Toledo, E; Bauer, L. 1995. Manual de identificación de 22 especies guatemaltecas del género *Tillandsia* de potencial uso sustentable. Guatemala, fideicomiso para la conservación en Guatemala. Guatemala, Universidad del Valle de Guatemala, Centro de Estudios Ambientales. 70 p.
8. Kamada, K. 2002. Micropropagación de *Spatyphyllum*, anturio, camote, ajo: informe final. Guatemala, Agencia de Cooperación Internacional de Japón. 120 p.
9. Labus-Schneider, FO; Abel, WO. 2002. Regeneration of *Tillandsia* through immature embryo culture. *In* International symposium on plant biotechnology and its contribution to plant development, multiplication and improvement. *Acta Horticulturae* 289. Consultado 10 set 2005. Disponible en http://www.actahort.org/books/289/289_24.htm
10. Morales Ch, H. 2002. Inducción de callo y regeneración *in vitro* de plantas, a partir de segmentos de hoja, de anturio (*Anthurium* sp.). Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC. 48 p.
11. Murashige, T; Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15:473-497.

12. Orozco, C. 1996. Cultivo de tejidos y su aplicación en agricultura *in vitro*. In Simposio nacional sobre cultivo de tejidos vegetales (1996, Guatemala). Memorias. Guatemala, Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas. p. 1-10.
13. Roca, WM; Mroginski, LA. 1993. Cultivo de tejidos en la agricultura, fundamentos y aplicaciones. Cali, Colombia, CIAT. 970 p.
14. Samyn, GL. 1993. *In vitro* propagation pony tayl palm produce multiple shoot plants. Hortscience 28:225.
15. Usui, K; Okabe, J. 1996. Principios básicos del cultivo de tejidos vegetales. Guatemala, ICTA / JOVC. 166 p.
16. Vidale, H. 1986. Cultivo *in vitro*. Trad. por Eugenia de Aragón Espejo. México, Cientific. 508 p.
17. Villalobos, VM. 1986. Fundamentos teóricos y prácticos del cultivo de tejidos vegetales. Chapingo, México, Colegio de Postgrados, Centro de Genética, Laboratorio de Biotecnología. 192 p.
18. Weaver, RJ. 1985. Reguladores de crecimiento de las plantas en la agricultura. Trad. Agustín Cotin. México, Trillas. 622 p.

CAPÍTULO III

SERVICIOS

**EVALUACIÓN DE DOS SUSTRATOS PARA EL CULTIVO DE LA BROMELIA
Guzmania lingulata (L.) Mez. (Bromeliaceae)**

**EFFECTO DE LA BENCILAMINOPURINA (BAP) SOBRE EL NÚMERO DE BROTES
DE *Tillandsia filifolia* W. Till (Bromeliaceae)**

3.1 EVALUACIÓN DE DOS SUSTRATOS PARA EL CULTIVO DE LA BROMELIA *Guzmania lingulata* (L.) Mez. (Bromeliaceae)

3.1.1 Presentación

El primer servicio obedeció a un requerimiento específico del Vivero Clavela del Aire, S.A., en cuanto a conocer el efecto de dos sustratos sobre las variables cuantitativas de número de hojas, longitud de raíces y peso final de la planta ornamental *Guzmania lingulata* (L.) Mez.

El primer sustrato estuvo compuesto por un tercio de corteza más un tercio de arena blanca más un tercio de peat moss, el segundo sustrato estuvo compuesto por un tercio de fibra de coco más un tercio de arena blanca más un tercio de peat moss; cada sustrato constituyó un tratamiento y se evaluaron bajo una distribución completamente al azar con dos tratamientos y 24 repeticiones.

Las unidades experimentales correspondieron a los agujeros de cinco centímetros de diámetro de bandejas de 24 agujeros, en cada agujero se colocó el sustrato junto con la planta con un número de cuatro hojas iniciales.

Al final del ensayo se concluye que el sustrato con un tercio de corteza más un tercio de arena blanca más un tercio de peat moss, es mejor pues proporciona una mayor capacidad de retención de humedad, mejor porosidad y aireación las que fueron vitales durante el desarrollo de las plantas y permitió obtener el mayor número de hojas por planta de 12.25 hojas a las ocho semanas de evaluación, con raíces de 10.91 cm de largo y peso final de la planta de 2.24 gramos; cualitativamente se observó que las plantas cultivadas en este sustrato tuvieron un verde intenso, en comparación al verde amarillento del otro sustrato, las hojas fueron más turgentes orientadas hacia arriba y con bordes bien definidos.

3.1.2 Marco Conceptual

A. Descripción botánica de *Guzmania lingulata* (L.) Mez

Hojas de 18 a 48.50 cm de largo por 1.0 a 2.30 cm de ancho. Vaina crema-canela, lepidota. Láminas liguladas, glabras o esparcidamente lepidotas, agudas. Escapo de 10.50 a 17.50 cm, erecto. Brácteas más largas que los entrenudos, foliáceas, terminales, de rojizas a crema-rojizas o verdes, mucho más largas que la inflorescencia (3).

Inflorescencias de 5 a 6 cm, densamente capitada, simple. Brácteas primarias rojizas. Brácteas florales de 3.10 a 4.0 cm, membranáceas, ecarinadas, lisas, cuculadas. Flores erectas, sésiles. Sépalos de 2.0 a 2.6 cm, libres, membranáceos. Pétalos blanco-amarillo. Cápsulas de 3 a 4 cm. Se reconoce por sus inflorescencias polísticas, densamente capitada y brácteas verdes rojizas (3).

Su distribución incluye a México, Guatemala, Brasil y Antillas. En Guatemala se le puede localizar en los departamentos de Alta Verapaz e Izabal.

B. Medios o sustratos

En invernadero o sombreadores la mayoría de las plantas son producidas en diversos recipientes que incluyen bancos, bandejas, entre otros. Las condiciones físicas presentes en los recipientes con frecuencia limitan el desarrollo de las plantas. Estos problemas de cultivo, asociados con el sustrato, son resultado de que los recipientes tienen poca profundidad y un volumen limitado. Algunos de los problemas son:

- a. Drenaje inadecuado y aireación pobre, especialmente en condiciones de poca luz.
- b. Falta de estandarización del sustrato.
- c. Control inadecuado de la fertilización.
- d. Acumulación excesiva de sales solubles.
- e. Riego frecuente para prever deficiencias de humedad.
- f. Toxicidad resultante de la esterilización con calor o química (2, 5).

Un sustrato adecuado debe eliminar, o minimizar, los efectos de estos problemas en la producción de plantas (5).

C. Características de un sustrato

A diferencia del suelo, que mantiene más o menos estables sus características en el tiempo, los sustratos no se comportan de igual forma.

Varios materiales y sus mezclas son utilizados para preparar sustratos. Las características resultantes de las mezclas no siempre son la suma de las características de sus partes, por lo que lo importante de un sustrato no son sus ingredientes y componentes, sino sus propiedades y parámetros. Para obtener buenos resultados se requiere que un sustrato tenga las características siguientes:

- a. Debe ser suficientemente denso y firme para sostener en su sitio las plantas o estacas, durante la germinación o el enraizamiento. Su volumen debe ser constante tanto si está húmedo o está seco.
- b. Debe retener suficiente humedad, para que el riego no sea muy frecuente.
- c. Debe ser suficientemente poroso para que el exceso de agua drene del mismo, permitiendo la entrada de oxígeno a las raíces.
- d. Debe tener un bajo contenido de sales (1, 4).

Ningún sustrato es considerado perfecto para todas las plantas y condiciones de crecimiento, puesto que las diferentes especies de plantas y esquejes varían en sus necesidades (5).

La capacidad de retención de agua que posee un sustrato, es definida por el tamaño de sus partículas, su forma y la porosidad. El agua se retiene en la superficie de las partículas y en el espacio formado por los poros (1).

D. Funciones de los sustratos

Hay cuatro funciones con las que debe cumplir un medio o sustrato para mantener un buen crecimiento de las plantas.

- a. Proporcionar un anclaje y soporte para la planta.
- b. Retener humedad de modo que esté disponible para la planta.
- c. Permitir el intercambio de gases entre las raíces y la atmósfera.
- d. Servir como depósito para los nutrientes de la planta.

La única función garantizada por el sustrato, después de hecha la mezcla, es el soporte; las demás deben ser controladas por el productor.

Algunos materiales individuales pueden ofrecer todas las cuatro funciones pero no en el grado requerido. Por lo que se deben realizar ajustes que compensen estos requerimientos, lo cual se logra mediante mezclas (1, 5).

Para alcanzar sus funciones el sustrato empleado debe ser:

- a. De peso liviano.
- b. De buena porosidad.
- c. Bien drenado pero con buena capacidad de retención de humedad.
- d. Ligeramente ácido y con buena capacidad de intercambio de cationes.
- e. Capaz de mantener un volumen constante tanto cuando está húmedo o seco.
- f. Fácil de almacenar por períodos largos sin cambios en sus propiedades físicas o químicas.
- g. De fácil manejo y mezcla (1, 5).

3.1.3 Objetivos

A. General

- a. Evaluar dos tipos de sustrato sobre la fase inicial de crecimiento de *Guzmania lingulata* (L.) Mez., en el vivero Clavela del Aire, S.A.

B. Específicos

- a. Establecer que sustrato permite obtener, durante el período de evaluación, mayor número de hojas, longitud de raíz y peso final de la planta.
- b. Describir los cambios cualitativos de las plantas en cada uno de los dos sustratos evaluados.

3.1.4 Hipótesis

- a. Al menos en uno de los dos sustratos se tendrá mayor número de hojas por planta, mayor longitud de raíces y mayor peso final de la planta de *Guzmania lingulata* (L.) Mez.

3.1.5 Metodología

A. Tratamientos

El proyecto consistió en comprobar cual de los dos sustratos es mejor para el cultivo de la planta *Guzmania lingulata* (L.) Mez., la cual es nativa de Alta Verapaz.

Tratamiento 1: Plantas de *Guzmania lingulata* (L.) Mez. cultivadas en sustrato preparado con una mezcla de una parte de corteza de encino, una parte de musgo peat y una parte de arena blanca.

Tratamiento 2: Plantas de *Guzmania lingulata* (L.) Mez. cultivadas en sustrato preparado con una mezcla de una parte de fibra de coco, una parte de musgo peat y una parte de arena blanca.

B. Variables de respuesta

Las variables de respuesta primarias medidas y analizadas estadísticamente fueron:

a. Número de hojas por planta

Se contó el número de hojas por planta durante la cuarta, quinta, sexta, séptima y octava semana después de colocadas en el sustrato.

b. Longitud de raíces en centímetros

Al final del ensayo, en la octava semana se extrajeron cuidadosamente las plantas de cada receptáculo y se extendieron sus raíces, luego por medio de una regla graduada en centímetros se midió la longitud.

c. Peso fresco de la planta en gramos

Las plantas se colocaron en una balanza semi-analítica de precisión de centésima de gramo y se midió el peso alcanzado por cada una de ellas durante el último día de la octava semana del ensayo.

C. Diseño experimental y modelo estadístico

El diseño experimental que se utilizó es el de una distribución completamente al azar con dos tratamientos y veinticuatro repeticiones lo cual hace un total de 48 unidades experimentales.

A continuación se presenta el modelo estadístico que valida la distribución planteada y la distribución de las unidades experimentales.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde:

- Y_{ij} = Variable respuesta de la ij-ésima unidad experimental.
- μ = Efecto de la media general.
- T_i = Efecto del i-ésimo sustrato.
- E_{ij} = Error experimental asociado a la ij-ésima unidad experimental.

D. Unidad experimental

La unidad experimental la constituyó el receptáculo de la bandeja con el sustrato incorporado y la planta de *Guzmania lingulata* (L.) Mez., dentro del mismo. Como unidad de muestreo se consideraron los 16 receptáculos del centro de cada bandeja.

E. Manejo del experimento

El manejo del experimento en general incluyó la selección de plantas uniformes, la preparación del sustrato y llenado de bandejas, la siembra de las plántulas, la fertilización y riego.

a. Selección de plántulas uniformes

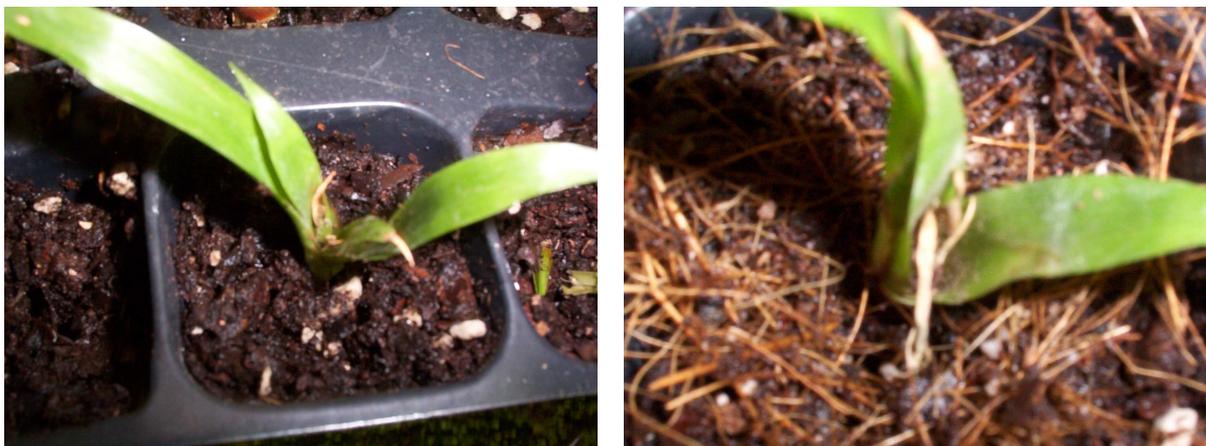
Las plántulas de *Guzmania lingulata* que se emplearon en el ensayo, tenían condiciones uniformes en cuanto al número de hojas que fue de cuatro por plántula y un peso inicial promedio de 0.30 gramos con una variación de ± 0.05 gramos.

b. Preparación de sustrato y llenado de bandejas

Para la preparación de cada uno de los dos sustratos, se juntaron los materiales separados de arena blanca, peat moss, fibra de coco y corteza. Para la preparación del primer sustrato se mezclaron 300 gramos de peat moss, 300 gramos de arena blanca y 300 gramos de corteza, luego se revolvieron manualmente hasta lograr una mezcla uniforme; así mismo para la preparación del segundo sustrato se mezclaron 300 gramos de peat most, 300 gramos de arena blanca y 300 gramos de fibra de coco. Cada sustrato luego de estar uniformemente mezclado se depositó en una bandeja de 24 compartimientos con diámetro de cinco centímetros.

c. Siembra de plántulas

Las plántulas previo a la siembra se sumergieron en una solución de fungicida (Benzonitrilo) y de un enraizador hormonal (auxinas) en forma de polvo humectante para favorecer un mejor crecimiento de las raíces y evitar así el daño por hongos. En cada una de las dos bandejas se colocaron 24 plántulas (48 plántulas en total), dejando en posición vertical la radícula, luego se presionó ligeramente con los dedos hacia los lados de la base de la plántula y se aplicó un primer riego (Figura 14).



a) *Guzmania lingulata* (L.) Mez. en sustrato con corteza b) *Guzmania lingulata* (L.) Mez. en sustrato con fibra de coco

Figura 14. Plántulas de *Guzmania lingulata* (L.) Mez. en cada uno de los dos tratamientos: a) sustrato con corteza y b) sustrato con fibra de coco

d. Condiciones de desarrollo

El cultivo permaneció a una temperatura entre 14 y 16 °C durante la noche y una humedad relativa entre 80 a 85 por ciento. Durante el día la temperatura estuvo en el rango de 20 a 25 °C y una humedad relativa entre el 55 al 70 por ciento. Las plántulas recibieron una iluminación natural entre 8,000 y 12,000 lux, la cual se constató por medio de un luxímetro.

e. Fertilización y riego

Se fertilizó foliarmente aplicando 20-20-20 más elementos menores a razón de 2.27 gramos por litro de agua cada 15 días. El riego se aplicó una vez por semana, procurando mantener una película de agua en la corona de la planta.

f. Toma de datos

Desde el final de la primera semana de montado el ensayo y al final de cada una de las ocho semanas que duró el ensayo, se realizaron apreciaciones visuales de carácter cualitativo de la turgencia de las hojas, el color y la abundancia relativa de las hojas.

Al final de la cuarta, quinta, sexta, séptima y octava semana del ensayo se registró la variable cuantitativa número de hojas por planta, para lo que se tomaron lectura de las 16 plantas centrales de cada bandeja.

Cuando finalizó la evaluación, a la octava semana de iniciado el ensayo, se registraron las variables de longitud de raíz y peso final de la plántula (Figura 15).

E. Análisis de la información

Para las variables cuantitativas de número de hojas por plántula durante la cuarta, quinta, sexta, séptima y octava semana, longitud de raíces y peso final de la planta se realizó un análisis de varianza, como todas las variables de respuesta presentaron diferencias significativas al cinco por ciento entre los dos sustratos evaluados, se realizó la prueba múltiple de medias de Tukey a fin de establecer el comparador mínimo de la diferencia indicada.

Los aspectos cualitativos del desarrollo de las plántulas se registraron por semana en una matriz de doble entrada, anotando las características visuales de las plántulas en cada uno de los dos sustratos evaluados.



Figura 15. Toma de datos de longitud de raíces y peso final de la planta a las ocho semanas de montado el ensayo.

3.1.6 Resultados

Los resultados de campo de las variables cuantitativas número de hojas por planta iniciales (semana 1), número de hojas por planta durante la cuarta, quinta, sexta, séptima y octava semana, así como los datos de las variables longitud de raíces en centímetros y peso final de la planta en gramos para cada una de las 32 unidades experimentales de la parcela neta y con los cuales se realizaron los análisis estadísticos correspondientes.

A. Número de hojas por planta de la cuarta a la octava semana

El número de brotes por planta durante la cuarta, quinta, sexta, séptima y octava semana fue diferente entre los sustratos. Para conocer que sustrato favoreció la mayor producción de hojas por planta se presenta el resumen de la prueba de separación de medias de Tukey en el Cuadro 11.

Cuadro 11. Resumen de Tukey para el número de hojas por planta de *Guzmania lingulata* (L.) Mez., durante las semanas 4, 5, 6, 7 y 8, en el vivero Clavela del Aire, S.A.

Semana	Hojas por planta en el		Wp (Comparador de Tukey)
	Tratamiento 1	Tratamiento 2	
4	5.75 (A)	4.25 (B)	0.3229
5	7.00 (A)	5.13 (B)	0.3670
6	9.19 (A)	6.25 (B)	0.4832
7	11.13 (A)	7.38 (B)	0.6657
8	12.25 (A)	8.06 (B)	0.7213

Tratamiento 1 = Sustrato con una tercera parte de corteza, una tercera parte de arena blanca y una tercera parte de peat moss

Tratamiento 2 = Sustrato con una tercera parte de fibra de coco, una tercera parte de arena blanca y una tercera parte de peat moss

De acuerdo al resumen de Tukey, el mejor sustrato es el de una tercera parte de corteza de encino, una tercera parte de arena blanca y una tercera parte de peat moss, puesto que permite una mejor conformación de la corona al ofrecer más hojas; al final del ensayo se tuvieron 12.25 hojas por planta en comparación al sustrato con fibra de coco donde se tuvieron alrededor de cuatro hojas menos (8.06 hojas por planta). La combinación de elementos en el primer sustrato con corteza permitió una mayor retención de humedad en comparación con el sustrato con fibra de coco, con lo cual las plantas tuvieron una ventaja inicial de humedad y oxigenación del medio; lo anterior es un indicativo de que el sustrato con corteza ofreció un medio suficientemente poroso para

permitir además la aireación y oxigenación de las raíces, en tanto que el sustrato con fibra de coco, no retuvo suficiente humedad proveyendo de un medio reseco y adverso para el adecuado enraizamiento, con lo cual el desarrollo de las plántulas fue menor.

B. Longitud de raíces y peso final de la planta

Para la longitud de raíces y el peso final de la planta se presentaron diferencias significativas entre los dos sustratos, por lo que se presenta en la Figura 16 el resumen de la prueba de separación de medias de Tukey al cinco por ciento de significancia.

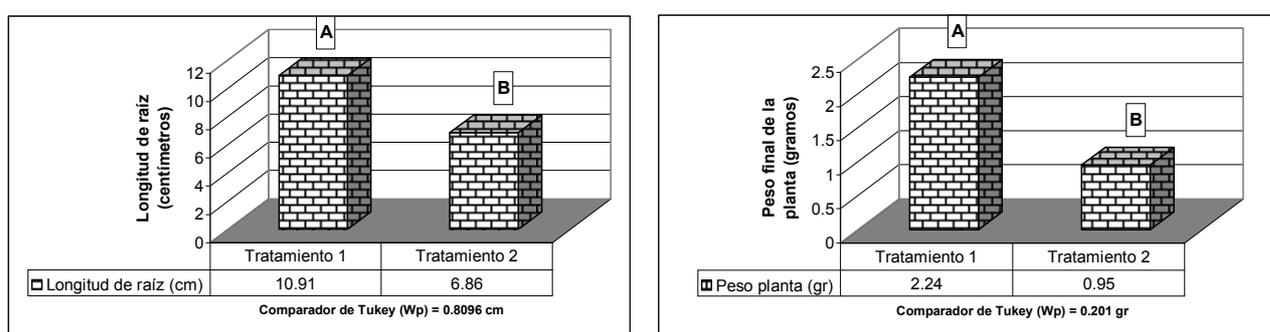


Figura 16. Resumen de la prueba de Tukey para la separación de medias de la longitud de raíces en centímetros y para el peso en gramos final de la planta *Guzmania lingulata* (L.) Mez.

Como se aprecia en la Figura 16, en el sustrato con corteza de encino (Tratamiento 1) se obtuvieron los mejores resultados pues las raíces fueron las más largas con 10.91 centímetros y se tuvo el mayor peso final por planta de 2.24 gramos, lo cual está estrechamente relacionado con las características del sustrato que se indicaron en el inciso previo, pues permitió desarrollar un mayor número de hojas (cuatro hojas más que en el sustrato con fibra de coco), por permitir un mejor desarrollo radicular y por lo tanto un mejor aprovechamiento de los nutrientes.

C. Características cualitativas de desarrollo

En el Cuadro 12 se presentan las características cualitativas observadas durante cada una de las semanas transcurridas desde el montaje del ensayo hasta su finalización a las ocho semanas.

Cuadro 12. Características cualitativas de las plantas de *Guzmania lingulata* (L.) Mez. en los dos sustratos evaluados.

Semana	Sustrato 1 (T1) (un tercio de corteza de encino, un tercio de arena blanca y un tercio de peat moss)	Sustrato (T2) (un tercio de fibra de coco, un tercio de arena blanca y un tercio de peat moss)
1	Plántulas vivas verde amarillento	Plántulas vivas verde amarillento
2	Hojas se empiezan a levantar, ya no tocan el sustrato	Las hojas aun dobladas hacia el sustrato y amarillentas
3	Sustrato húmedo, empiezan a crecer las plántulas	El sustrato no conserva adecuadamente la humedad, se necesita reducir intervalo de riego
4	Todas las plántulas han incrementado el número de hojas	El número de hojas en la plantas en general es el mismo
5	Hojas vivas y hacia arriba, verde intenso	Hojas ya no tocan el sustrato en la mayoría de plantas
6	Bordes de las hojas bien definidos	Lo amarillento está menguando por un verde ligero
7	Hojas continúan verde intenso, incrementando su número	Mayoría de hojas se ha levantado hacia arriba pero conserva un verde pálido
8	Hojas verde intenso más numerosas	Todas las hojas erguidas hacia arriba, verde pálido

En general desde el inicio del ensayo se apreció que el sustrato con corteza fue mejor que el sustrato con fibra de coco, puesto que el primero tuvo una buena capacidad de retención de humedad, lo que facilitó la absorción de los nutrientes en la solución, y desde la segunda semana el anclaje de las raíces fue muy buena por lo que permitió mantener las plantas bien turgentes y de esa cuenta las hojas se empezaron a levantar y ya no tocaban el sustrato, con lo que también se favoreció la formación de fotosintatos primarios a través de la fotosíntesis (Figura 17).



Figura 17. Apariencia general de las plantas en el sustrato con corteza de encino (1) y el sustrato con fibra de coco (2).

Las plantas del sustrato con fibra de coco al no disponer de suficiente humedad y tener un medio más seco, se puso en desventaja desde la primera pues no suministró la humedad suficiente por lo que las raíces se estresaron y no suministraron la humedad suficiente a las hojas para mantener su turgencia que les permitiera separarse del sustrato, en consecuencia la cantidad de hojas fue menor y siempre se mostraron amarillentas en comparación al sustrato con corteza donde mostraron un color verde intenso.

3.1.7 Conclusiones y recomendaciones

A. Conclusiones

- a. El sustrato con un tercio de corteza de encino más un tercio de arena blanca más un tercio de peat moss, permite una mayor capacidad de retención de humedad, porosidad y aireación por lo que se obtienen plantas de ***Guzmania lingulata* (L.) Mez.**, con mayor número de hojas, mayor longitud de raíces y por ende mayor peso final que las plantas producidas en el sustrato con un tercio de fibra de coco más un tercio de arena blanca más un tercio de peat moss.

- b. El sustrato con un tercio de corteza de encino más un tercio de arena blanca más un tercio de peat moss, es mejor que el sustrato con un tercio de fibra de coco más un tercio de arena blanca más un tercio de peat moss, pues las plantas de ***Guzmania lingulata* (L.) Mez.**, presentan mejores características cualitativas, especialmente que las hojas se presentan turgentes, orientadas hacia arriba, con bordes bien definidos y de un verde intenso.

B. Recomendaciones

- a. Para la propagación de ***Guzmania lingulata* (L.) Mez.**, se recomienda cultivarla en un sustrato con un tercio de corteza de encino más un tercio de arena blanca más un tercio de peat moss, pues a las ocho semanas se tienen 12.25 hojas por planta, con raíces de 10.91 cm de largo y un peso final de la planta de 2.24 gramos, además la apariencia de las plantas es atractiva con sus hojas verde intenso, turgentes y orientadas hacia arriba.

3.1.8 Bibliografía

1. Ballester, J. 1992. Substratos para el cultivo de plantas ornamentales. Madrid, España, Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, Madrid. Divulgadoras 11/92 HD. 44 p.
2. Hartman, H; Kester, D. 1991. Plant propagation: principles and practices. 5 ed. NJ, US, Prentice Hall. p. 5–83.
3. INBIO (Instituto Nacional de la Biodiversidad, CR). 2006. *Guzmania lingulata* (en línea). Costa Rica. Consultado 10 jul 2006. Disponible en: <http://darnis.inbio.ac.cr/fmpro?-db=ubipub.fp3&-lay=weball%format=/ubi/detail.html&-op=bw&id=570&-find>.
4. Miller, J; Jones, N. 1995. Organic and compost-based growing media for tree seedling nurseries. Washington, US, The World Bank. 75 p.
5. OIRSA, CR). 2002. Producción de sustratos para viveros. Costa Rica, VIFINEX / OIRSA. 50 p

3.2 EFECTO DE LA BENCILAMINOPURINA (BAP) SOBRE EL NÚMERO DE BROTOS DE *Tillandsia filifolia* W. Till (Bromeliaceae)

3.2.1 Presentación

Para iniciar a ejecutar las recomendaciones emanadas a través del diagnóstico de la producción de especies del género *Tillandsia*, en el vivero Clavela del Aire, S.A., a través del presente servicio se evalúa *in vivo*, la propagación de *Tillandsia filifolia* W. Till, empleando el regulador del crecimiento bencilaminopurina, en dosis de 6.25 cc por litro de agua, tres veces por semana durante seis semanas, en comparación al testigo absoluto del vivero, donde no se prescinde del uso de cualquier regulador del crecimiento.

Resultado de la investigación se tuvo que la Bencilaminopurina fue efectiva para la propagación *in vivo* de la especie epífita *Tillandsia filifolia* W. Till, pues con su aplicación se tuvieron 9.23 brotes por planta en comparación a los dos que se obtenían anteriormente en el vivero y se reduce el tiempo de emisión de brotes vegetativos (hijuelos), pues los brotes se tienen a los 135 días de la preparación de las plantas, en comparación a los 225 días que se tarda en condiciones normales para tener únicamente dos brotes por planta.

3.2.2 Marco conceptual

A. Descripción botánica de *Tillandsia filifolia* W. Till

Plantas epífitas de 10 a 25 cm de altura hasta la flor, tallo ramificado y curvado; flor de 15 a 25 cm rojizo-corinto. Hojas en densa roseta de 6 a 9 cm de largo y de 0.6 a 0.7 cm de ancho, pálidas o densamente blanco, o ferrugíneas produciendo escamas basalmente extendidas de 1 mm de ancho, vainas subtriangulares, pequeñas e indistintas de la lámina, filo linear-subulado, 2 mm de ancho en la base. Lámina linear-subulada, filiforme-atenuado, rígido, 2 cm de ancho en la base, escapo erecto o ascendente, excediendo las hojas glabros, brácteas desde 2 veces o más largas que los entrenudos, vaginiformes. Inflorescencia 4 a 7 cm simple, con 5 a 8 flores. Brácteas florales 0.8 a 1.1 cm más cortas o tan largas como los entrenudos, más cortas que los lepidotas, cactáceas a membranáceas. Flores subpatentes, pedicelos membranáceos, libres (pelos rojos). El fruto es una cápsula de 2 a 5 cm (2, 4, 5).

En la Figura 18, se presenta la conformación completa y de la flor de la epífita *Tillandsia filifolia* W. Till.



Fuente: (3)

Figura 18. Vista de la planta completa y flor de la epífita *Tillandsia filifolia* W. Till.

B. Condiciones agroecológicas de *Tillandsia filifolia* W. Till

Altitud: 300 a 2,400 msnm

Hábitat: Bosques secos.

Distribución: México, Cuba, Jamaica y Guatemala.

Guatemala: Suchitepéquez, Quiché, Huehuetenango, Quetzaltenango y San Marcos (2).

Los productores de bromelias, en Guatemala, la cultivan para exportación bajo condiciones de sombreadores (estructura metálica cubierta con sarán).

C. Citocininas

Promueven la división celular y organización de callos. Las más utilizadas son: bencilaminopurina (BAP), cinetina y zeatina. La BAP es la citocinina de empleo más generalizada, estimula la formación de brotes y de yemas adventicias (8).

La función biológica de las citocininas es estimular principalmente la división celular o citocinesis. Perea, citado por Villacinda (7), menciona que en cultivos *in vitro*, las citocininas han permitido grandes progresos, especialmente, en micropropagación, por su función de proliferación celular mediante la división celular y la diferenciación de los explantes. Las citocininas más utilizadas son la bencilaminopurina (BAP), siendo ésta más utilizada que la cinetina (KIN) y la 6-4-hidroxi-e-metil but-tran-2-erilamino-purina (ZEA).

Las citocininas parecen ser sintetizadas por la incorporación de una cadena lateral, generalmente con cinco carbonos en la posición N6 de la base nitrogenada adenina. Esta base nitrogenada tiene la estructura idéntica a la adenina que ocurre en los ácidos nucleicos. Los diferentes tipos de citocininas difieren entre sí por la modificación de las cadenas laterales (1).

Las citocininas naturales son encontradas en todas las plantas superiores, en las algas y en los hongos y en ciertas bacterias como moléculas libres (1).

El meristemo apical de la raíz es el principal lugar de síntesis de citocininas en plantas. Las citocininas son transportadas por el xilema y el floema (1).

Existen indicativos de que las citocininas aumentan la concentración de calcio en el citoplasma, promoviendo su absorción del medio externo. El calcio a través de la unión con la proteína calmodulina. La calmodulina es inactiva como regulador, pero el complejo calmodulina–calcio puede activar un gran número de enzimas. Las citocininas parecen estimular la síntesis de proteínas específicas del cloroplasto, estabilizando ciertos ARNm específicos que tienen su degradación difícil (1).

a. Efecto de las citocininas en cultivo de tejidos vegetales (1)

- i. Estimulación de la división celular.
- ii. Formación de brotes adventicios.
- iii. Promueven la formación de callos embriogénicos.
- iv. Uso en cultivo de brotes.
- v. Proliferación de brotes adventicios.
- vi. Formación de yemas adventicias de brote.
- vii. Inhibición de formación de raíz.

3.2.3 Objetivos

A. General

- a. Contribuir al desarrollo de una metodología que permita la propagación de la especie de *Tillandsia filifolia* W. Till, de potencial uso sostenible.

B. Específicos

- a. Determinar el efecto de la bencilaminopurina sobre la propagación de la especie *Tillandsia filifolia* W. Till, a nivel de vivero en cultivo *in vivo*.
- b. Establecer el número de brotes por planta promedio que se tiene al aplicar bencilaminopurina, a plantas de *Tillandsia filifolia* W. Till, en comparación con el testigo.

3.2.4 Metodología

A. Tratamientos

Para evaluar el efecto de la bencilaminopurina, sobre el número de brotes (hijuelos) por planta de *Tillandsia filifolia* W. Till, se consideraron dos grupos de plantas. Al primer grupo de plantas se le trató con 25 ml de bencil por litro de agua y el segundo grupo de plantas no se trató con regulador del crecimiento alguno (tratamiento testigo).

Tratamiento 1 (G1): Grupo de 150 plantas tratadas con 25 ml de bencilaminopurina por litro de agua, en tres aplicaciones semanales durante seis semanas.

Tratamiento 2 (G2): Grupo de 150 plantas sin tratamiento de bencilaminopurina.

B. Variable de respuesta

La variable de respuesta analizada fue:

Número de brotes por planta de *Tillandsia filifolia* W. Till

C. Modelo estadístico

Los brotes obtenidos en cada una de las 150 plantas de *Tillandsia filifolia* W. Till de cada uno de los dos grupos de plantas (G1 = plantas tratadas con bencilaminopurina y G2 = plantas no tratadas con bencilaminopurina) se compararon por medio de la prueba de *t* de student de muestras apareadas, para lo cual se emplearon las fórmulas siguientes (6):

$$t = \frac{\bar{d}}{S\bar{d}} = \frac{\text{promedio de diferencias}}{\text{error estándar de la media}}$$

$$\bar{d} = \frac{\sum Xi}{n} = \frac{\text{suma algebraica de diferencias}}{\text{número de pares}}$$

$$S\bar{d} = \sqrt{\frac{S^2}{n}} \Rightarrow S^2 = \frac{\sum X^2}{n-1} \Rightarrow \sum X^2 = \sum Xi^2 - \frac{(\sum Xi)^2}{n}$$

Donde:

$t =$ Estadístico de t

$\bar{d} =$ Promedio de las diferencias de $G1 - G2$

$S\bar{d} =$ Desviación estándar

$X_i =$ $G1 - G2$ (diferencia de cada par de valores)

$A =$ Brotes por planta en el grupo $G1$

$B =$ Brotes por planta en el grupo $G2$

$\sum X_i =$ Suma algebraica de las diferencias de $G1 - G2$

$S^2 =$ Varianza

$\sum X_i^2 =$ Sumatoria de cada diferencia al cuadrado

$(\sum X_i)^2 =$ Sumatoria de todas las diferencias al cuadrado

La comparación se realizó con un nivel de significancia del 5 por ciento. Para conocer la diferencia significativa entre el número de brotes por planta entre los dos grupos se procedió a construir la curva de distribución de t con su región de rechazo y de aceptación respectivamente. Se plantearon las hipótesis estadísticas siguientes:

Ho: \bar{X} brotes por planta en el Grupo 1 (tratadas con bencilaminopurina) = \bar{X} brotes por planta en el Grupo 2 (sin tratamiento de bencilaminopurina).

Ha: \bar{X} brotes por planta en el Grupo 1 (tratadas con bencilaminopurina) \neq \bar{X} brotes por planta en el Grupo 2 (sin tratamiento de bencilaminopurina).

D. Manejo del experimento

En términos generales, el manejo del experimento incluyó la selección de plantas para el ensayo, el acondicionamiento de las camas de desarrollo, la fertilización e inducción floral y finalmente la aplicación del tratamiento a las plantas.

a. Selección de plantas para el ensayo

Se seleccionaron 300 plantas de *Tillandsia filifolia* W. Till, uniformes en cuanto a tamaño follaje, edad y peso, aceptando una diferencia máxima en el peso de ± 1.50 gramos. De estas 300 plantas uniformes 150 se destinaron para el grupo 1 ($G1 =$ plantas tratadas con bencilaminopurina) y 150 se destinaron para el grupo 2 ($G2 =$ plantas no tratadas con bencilaminopurina).

b. Acondicionamiento de la cama de desarrollo

Se acondicionó una cama de crecimiento y desarrollo, fabricada con bambú, reglas de madera y malla delgada. La altura de la cama de 1.30 m sobre el suelo, 0.90 m de ancho y 2.00 m de largo. A lo largo de la cama se realizó una división a un metro de distancia a fin de disponer las 150 plantas del grupo 1 en la primera mitad y las 150 plantas del grupo 2 en la segunda mitad de la cama.

La función principal de la malla delgada en la cama es que la *Tillandsia filifolia* W. Till, adhiera sus raíces a ésta a fin de que le sirva de medio de sostén, pues el agua y nutrientes lo absorben por medio de las hojas (Figura 19).



Figura 19. Plantas de *Tillandsia filifolia* W. Till adheridas a la cama de desarrollo.

La cama de crecimiento y desarrollo se dispuso bajo un sombreador con sarán, que permite el 60 por ciento de sombra.

c. Fertilización

En los dos grupos de plantas se realizó una aplicación de aminoácidos a razón de 2.50 cc por litro de agua, para la estimulación de la espiga floral; se aplicó un fertilizante foliar compuesto por 20N, 20P, 20 K más elementos menores a razón de 2.27 gr por litro

de agua (01 de octubre). Antes de la fertilización se dejaron las plantas sin riego durante 48 horas a fin de que la superficie foliar se encontrara seca y de esta manera retuviera y absorbiera la mayor parte de la solución aplicada.

d. Aplicación de los tratamientos

A los 14 días después de la aplicación de los aminoácidos, a las 150 plantas del grupo 1, se les aplicó el tratamiento de bencilaminopurina a razón de 6.25 cc por litro de agua (15 octubre). Este tratamiento se aplicó únicamente al mismo grupo de plantas tres veces por semana durante seis semanas (30 noviembre), a las 9:00 horas, por medio de una bomba aspersora. A las 150 plantas del grupo testigo no se les aplicó regulador de crecimiento y únicamente se les aplicó el riego.

Luego de las seis semanas de la aplicación del regulador de crecimiento bencilaminopurina, a las 150 plantas del grupo 1, se continuó aplicando solamente riego con agua, al igual que las otras 150 plantas del grupo testigo.

e. Toma de datos

A los 135 días después (28 de febrero) del inicio de la aplicación del regulador de crecimiento en el grupo de plantas 1 (G1), es decir 149 días después de la aplicación de los aminoácidos y fertilización en ambos grupos, se contó el número de brotes emitidos en cada una de las 150 plantas en cada uno de los dos grupos de plantas.

E. Análisis de la información

Para conocer si la diferencia entre el número de brotes por planta de cada uno de los dos grupos de plantas evaluados, fue estadísticamente significativa al cinco por ciento de significancia, se realizaron los cálculos respectivos por medio de las fórmulas indicadas en el inciso del modelo estadístico; luego se procedió a construir la curva de distribución de "t" con su región de rechazo y aceptación de la hipótesis nula respectivamente.

3.2.5 Resultados

A los 135 días (28 febrero) después del inicio de la aplicación del regulador de crecimiento bencilaminopurina, en las plantas del grupo control o testigo (G2), donde no se aplicó bencilaminopurina, no se presentaron brotes; entre tanto que plantas del grupo tratado con bencilaminopurina (G1), presentaban al menos cinco brotes y otras hasta quince brotes por planta (Figura 20).

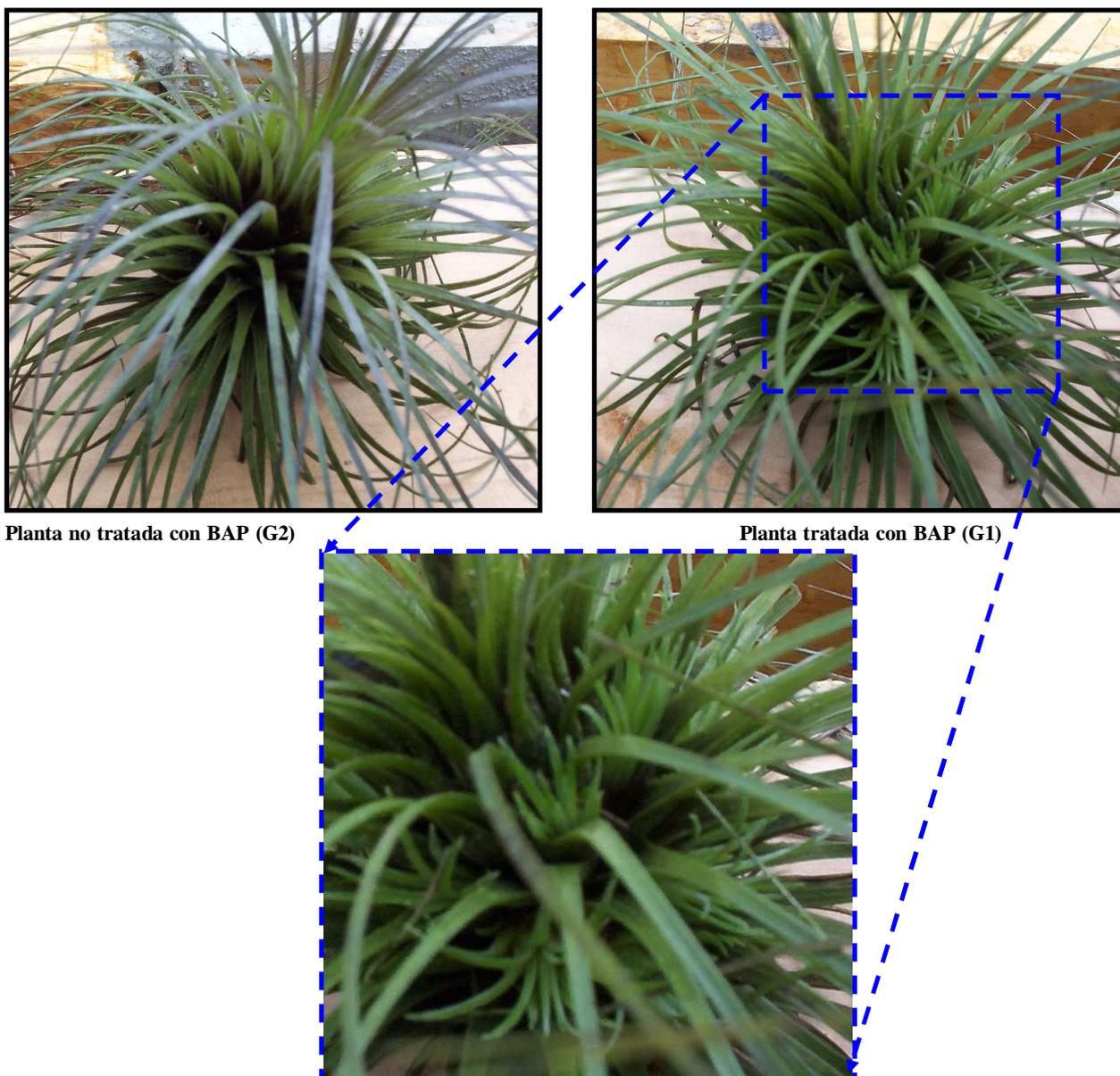


Figura 20. *Tillandsia filifolia* W. Till tratada con bencilaminopurina del grupo 1 (G1) mostrando los brotes y no tratada con bencilaminopurina del grupo 2 (G2) sin brotes.

En el vivero Clavela del Aire, S.A., para la *Tillandsia filifolia* W. Till, luego de inducir la floración con aminoácidos (durante la primera semana de octubre) transcurren 240 días para observar brotes vegetativos (a finales de mayo y principios de junio), teniendo en promedio dos brotes por planta, según indicaciones de trabajadores del vivero. Para finales del mes de febrero, ninguna planta del tratamiento testigo (sin aplicación de bencilaminopurina), tenía brote alguno. Con la aplicación de bencilaminopurina se logró, además de incrementar el número de brotes vegetativos por planta, reducir el tiempo en la formación de brotes en al menos noventa días.

A. Número de brotes por planta de *Tillandsia filifolia* W. Till

En el Cuadro 13, se presenta el número de brotes por planta que mostró cada una de las 150 *Tillandsia filifolia* W. Till, tratadas con bencilaminopurina y las 150 *Tillandsia filifolia* W. Till, que no se trataron con bencilaminopurina.

Cuadro 13. Brotes por planta en cada uno de los dos grupos de *Tillandsia filifolia* W. Till. evaluados a los 135 días después del inicio de la aplicación de los tratamientos

No.	G1	G2															
1	5	0	26	8	0	51	5	0	76	8	0	101	8	0	126	8	0
2	10	0	27	15	0	52	5	0	77	8	0	102	8	0	127	8	0
3	5	0	28	5	0	53	10	0	78	10	0	103	15	0	128	8	0
4	10	0	29	5	0	54	8	0	79	8	0	104	5	0	129	8	0
5	8	0	30	15	0	55	15	0	80	15	0	105	10	0	130	15	0
6	15	0	31	8	0	56	10	0	81	10	0	106	12	0	131	10	0
7	8	0	32	5	0	57	8	0	82	8	0	107	5	0	132	12	0
8	8	0	33	8	0	58	12	0	83	8	0	108	15	0	133	10	0
9	10	0	34	15	0	59	10	0	84	12	0	109	10	0	134	10	0
10	5	0	35	5	0	60	5	0	85	8	0	110	5	0	135	8	0
11	5	0	36	15	0	61	15	0	86	10	0	111	12	0	136	15	0
12	10	0	37	10	0	62	8	0	87	8	0	112	5	0	137	8	0
13	5	0	38	8	0	63	10	0	88	12	0	113	5	0	138	8	0
14	8	0	39	10	0	64	8	0	89	10	0	114	15	0	139	12	0
15	8	0	40	15	0	65	5	0	90	5	0	115	8	0	140	5	0
16	15	0	41	8	0	66	12	0	91	8	0	116	10	0	141	8	0
17	8	0	42	10	0	67	10	0	92	10	0	117	12	0	142	12	0
18	12	0	43	12	0	68	8	0	93	15	0	118	8	0	143	15	0
19	5	0	44	10	0	69	12	0	94	5	0	119	10	0	144	5	0
20	8	0	45	8	0	70	8	0	95	10	0	120	8	0	145	12	0
21	12	0	46	15	0	71	12	0	96	12	0	121	12	0	146	8	0
22	5	0	47	8	0	72	8	0	97	10	0	122	8	0	147	5	0
23	8	0	48	10	0	73	10	0	98	10	0	123	10	0	148	12	0
24	8	0	49	8	0	74	8	0	99	5	0	124	8	0	149	5	0
25	8	0	50	10	0	75	8	0	100	8	0	125	8	0	150	8	0

Donde:

No. = Planta de *Tillandsia filifolia* la de la 1 a la 150 de cada uno de los dos grupos evaluados

G1 = Número de brotes por planta en el grupo 1 (G1) tratadas con Bencilaminopurina

G2 = Número de brotes por planta en el grupo 2 (G2) NO tratadas con Bencilaminopurina

Con los resultados del Cuadro 13, se realizó la prueba de "t" de student, cuyo resumen se presenta en el Cuadro 14 y Figura 21.

Cuadro 14. Resumen de la prueba de "t" para la separación de las medias del número de brotes por planta de *Tillandsia filifolia* W. Till

	Tratamiento	Testigo
Media	9.23333333	0
Varianza	8.91834452	0
Observaciones	150	150
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	149	
Estadístico t	37.8670978	
P(T<=t) una cola	1.1954E-78	0.0001
Valor crítico de t (una cola)	1.65514393	
P(T<=t) dos colas	2.3907E-78	0.00001
Valor crítico de t (dos colas)	1.97601366	

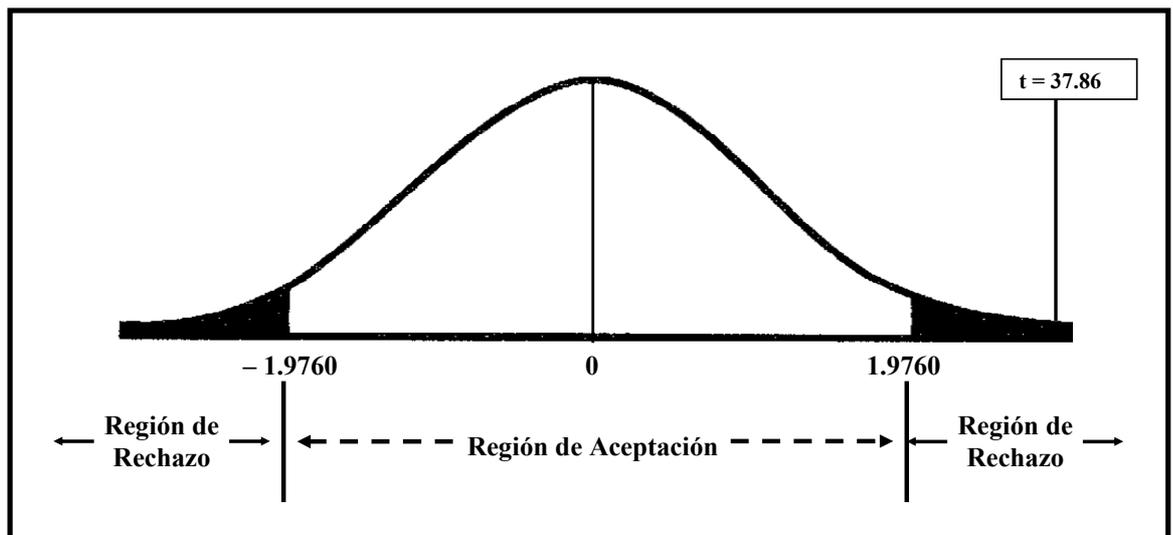


Figura 21. Curva de "t" para el número de brotes por planta de *Tillandsia filifolia* sometidos a tratamiento con bencilaminopurina y sin bencilaminopurina, en vivero Clavela del Aire, S.A., 2006.

El estadístico de "t" (37.86) para la diferencia de las medias del número de brotes por planta de *Tillandsia* de los dos grupos evaluados, fue mayor que el valor crítico para t al cinco por ciento de significancia (1.9760), por lo tanto cae dentro de la región de rechazo de la hipótesis nula planteada; por lo que se rechaza que el número de brotes por *Tillandsia filifolia* en ambos grupos sea estadísticamente igual, siendo mayor en las

Tillandsias que se trataron con BAP ya que se tuvieron 9.23 brotes por planta, en tanto que en las *Tillandsias* donde no se aplicó BAP, no se observó brote alguno.

En tal sentido el empleo de la citosinina bencilaminopurina en dosis de 6.25 cc por litro de agua, aplicado tres veces por semana durante seis semanas es favorable para la emisión de brotes vegetativos (hijuelos), puesto que en condiciones normales (testigo) se inicia la brotación 90 días después y además únicamente se obtienen en promedio dos brotes por planta.

3.2.6 Conclusiones y Recomendaciones

A. Conclusiones

- a. Por medio del presente servicio se contribuye con una metodología importante para la propagación *in vivo* de la especie ***Tillandsia filifolia W. Till***, que ofrece mejores resultados que la metodología actualmente empleada por el vivero Clavela del Aire, S.A.
- b. La bencilaminopurina (BAP) promueve en la especie ***Tillandsia filifolia W. Till*** una mayor emisión de brotes vegetativos y reduce el tiempo de emisión de los mismos hasta en 90 días comparado con la metodología actual.
- c. Con la aplicación de (BAP) se obtienen 9.23 brotes vegetativos por ***Tillandsia filifolia W. Till***, a los 135 días después de la aplicación de los mismos.

B. Recomendaciones

- a. Para aumentar el número de brotes vegetativos (hijuelos) por ***Tillandsia filifolia W. Till*** en condiciones *in vivo*, se recomienda la aplicación de la citocinina Bencilaminopurina (BAP) a razón de 6.25 cc por litro de agua, tres veces por semana durante seis semanas, iniciando su aplicación la primera semana de octubre, ya que con ello se tendrán, durante la última semana de febrero del año siguiente, 9.23 brotes vegetativos por planta.
- b. Se recomienda evaluar el regulador de crecimiento Bencilaminopurina (BAP), en las otras especies de ***Tillandsia*** que se producen en el vivero Clavela del Aire, S.A.

3.2.7 Bibliografía

1. Amador, D. 2000. Reguladores del crecimiento utilizados en cultivo de tejidos vegetales: términos y conceptos fundamentales. Guatemala, USAC, Facultad de Agronomía. 73 p.
2. Chávez, G. 1996. Las tillandsias. Guatemala, Consejo Nacional de Áreas Protegidas. 20 p.
3. Feldhoff Böhm, UM; Orozco Castillo, C; Sagastume Mena, HA. 2005. Propagación *in vivo* e *in vitro* del género *Tillandsia* en vías de extinción y de potencial uso sustentable. Guatemala, CONCYT / ICTA / FAUSAC / FONACYT. 43 p.
4. Klaus, L. 2000. Tillandsien. Deutschland, Sandgrubenweg, Bissendorf-Wulften, Mediaprint Paderborn. 64 p.
5. Padilla, V. 1986. Bromeliads. New York, US, Latina. p. 72-99.
6. Reyes Castañeda, P. 1982. Diseño y análisis de experimentos aplicados. México, Trillas. 349 p.
7. Villacinda Maldonado, RW. 1990. Respuesta de la especie tres puntas (*Neuroloma lobata* L.) a la propagación *in vitro*. Tesis Ing. Agr. Guatemala, USAC, Facultad de Agronomía. p. 93.
8. Villalobos, VM. 1990. Fundamentos teórico-prácticos del cultivo de tejidos vegetales. Roma, Italia, FAO. p. 3-41. (Cuadernillo 105).

3.3 APÉNDICE

Apéndice 1. Composición del medio de cultivo Murashige y Skoog 1962

Todos los medios de cultivo utilizados para este trabajo estuvieron basados en las sales de Murashige y Skoog (1962). Las soluciones concentradas de estas sales son normalmente preparadas en cuatro partes:

a- Sales

b- MgSO₄

c- Hierro

d- Vitaminas

Sales:

NH ₄ O ₃	70,0
KNO ₃	80,0
CaCl ₂ .H ₂ O	18,0
KH ₂ PO ₄	7,0
H ₃ BO ₃	0,2
MnS ₄ 4OH ₂ O	1,0
MnSO ₄ H ₂ O	0,8
ZnSO ₄ 7H ₂ O	0,4
ZnSO ₄ H ₂ O	0,2
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,010

MgSO₄

MgSO ₄ .7H ₂ O	3,7
--------------------------------------	-----

Hierro

Na ₂ EDTA	0,75
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,55

Vitaminas

Tiamina HCl	0.02
Glicina	0.1
Acido nicotínico	0.025
Piridoxina HCl	0.025

Apéndice 2. Boleta de toma de datos

Universidad de San Carlos de Guatemala

Facultad de Agronomía

Ejercicio Profesional Supervisado EPSA

Título de la investigación: Propagación *in vitro* de la especie *Tillandsia caput-medusae* Morren (Bromeliaceae) de potencial uso sostenible.

Investigador: José Rolando Mansilla M. Carné 88-16969

Fecha del muestreo: _____ Número de muestreo: /4.

No. de Tratamiento: _____

Dosis de bencilaminopurina para cada unidad experimental: _____

Variables de Respuesta	Repeticiones				Total	Media
	1	2	3	4		
Longitud de planta (cm)						
Número de hojas y brote						
Número de brotes						
Número de raíces						

Apéndice 3. Datos de campo del Servicio 1: Evaluación de dos sustratos para el cultivo de *Guzmania lingulata* (L.) Mez.

Planta	Sustrato	NUMERO DE HOJAS POR PLANTA DURANTE LA SEMANA						Longitud Raiz (cm)	Peso final de planta (gr)
		1	4	5	6	7	8		
1	Corteza	4	6	7	9	11	12	11.2	2.20
2	Corteza	4	5	7	9	12	13	11.6	2.30
3	Corteza	4	6	7	9	11	11	9.3	1.92
4	Corteza	4	6	7	10	12	13	11.8	2.50
5	Corteza	4	6	7	10	13	14	13.0	2.80
6	Corteza	4	6	7	10	12	12	11.0	2.28
7	Corteza	4	5	8	9	10	11	9.7	2.06
8	Corteza	4	6	7	8	10	12	10.5	2.18
9	Corteza	4	6	8	10	12	12	11.1	2.30
10	Corteza	4	6	7	9	11	13	10.4	2.00
11	Corteza	4	5	6	8	11	13	11.8	2.45
12	Corteza	4	6	7	10	11	13	11.5	2.33
13	Corteza	4	6	7	9	10	10	8.0	1.70
14	Corteza	4	6	7	10	12	14	12.5	2.63
15	Corteza	4	5	6	8	10	12	11.0	2.28
16	Corteza	4	6	7	9	10	11	10.2	2.01
1	Fibra coco	4	4	5	6	7	7	5.1	0.51
2	Fibra coco	4	4	5	6	7	8	6.6	0.93
3	Fibra coco	4	4	5	6	8	9	8.5	1.35
4	Fibra coco	4	5	5	6	7	8	6.9	0.90
5	Fibra coco	4	5	6	7	8	8	7.1	0.96
6	Fibra coco	4	4	5	6	6	8	7.5	1.00
7	Fibra coco	4	4	5	6	7	7	5.8	0.71
8	Fibra coco	4	4	5	7	9	9	8.0	1.28
9	Fibra coco	4	4	5	7	8	8	6.5	0.93
10	Fibra coco	4	4	6	7	9	10	8.2	1.55
11	Fibra coco	4	5	6	7	8	8	6.4	0.86
12	Fibra coco	4	4	4	5	6	7	6.0	0.67
13	Fibra coco	4	4	5	6	7	7	5.5	0.59
14	Fibra coco	4	4	5	6	7	9	8.0	1.23
15	Fibra coco	4	5	5	6	7	8	6.7	0.88
16	Fibra coco	4	4	5	6	7	8	7.0	0.91
Media en Corteza		4.00	5.75	7.00	9.19	11.13	12.25	10.91	1.60
Media en fibra coco		4.00	4.25	5.13	6.25	7.38	8.06	6.86	0.95