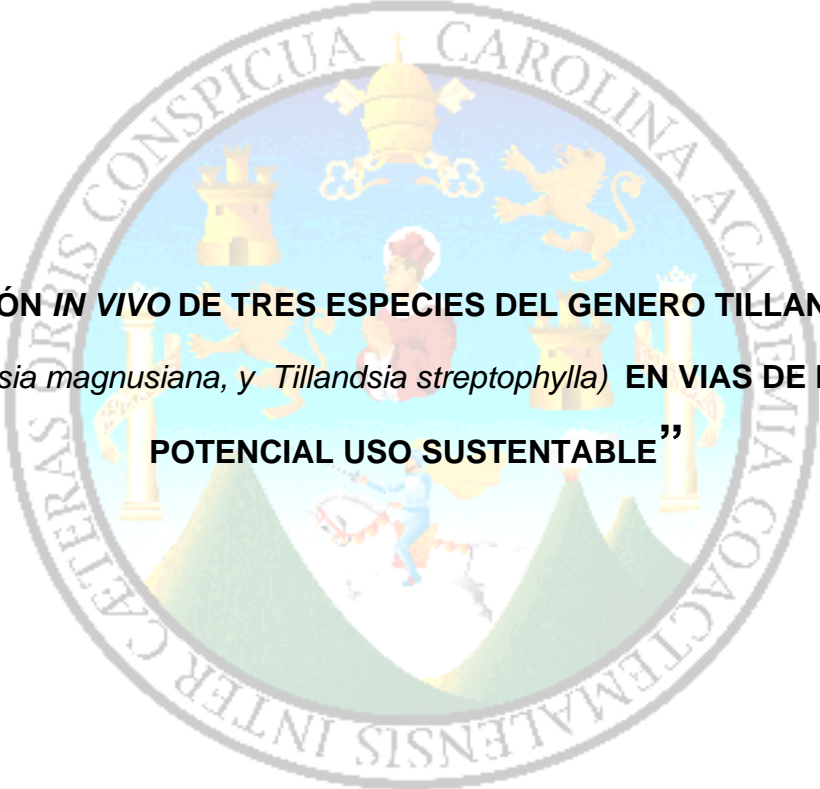


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS



“CLONACIÓN *IN VIVO* DE TRES ESPECIES DEL GENERO TILLANDSIA (*Tillandsia pruinosa*, *Tillandsia magnusiana*, y *Tillandsia streptophylla*) EN VIAS DE EXTINCION Y DE POTENCIAL USO SUSTENTABLE”

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2008

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS



En el acto de investidura como
INGENIERO AGRÓNOMO
EN
SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA
EN EL GRADO ACADEMICO DE
LICENCIADO

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2008

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR:

Lic. Estuardo Gálvez

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO:	MSc. FRANCISCO JAVIER VAZQUEZ VAZQUEZ
VOCAL I:	ING. AGR. WALDEMAR NUFIO REYES
VOCAL II:	ING. AGR. WALTER ARNOLDO REYES SANABRIA
VOCAL III:	MSc. DANILO ERNESTO DARDÓN ÁVILA
VOCAL IV:	Br. RIGOBERTO VENTURA MORALES
VOCAL V:	Br. MIGUEL ARMANDO DONIS SALAZAR
SECRETARIO ACADEMICO:	ING. AGR. EDWIN ENRIQUE CANO MORALES

Guatemala, noviembre de 2008

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

Distinguidos miembros:

De manera muy atenta y de acuerdo con las normas establecidas por la ley orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a su consideración el documento

CLONACIÓN IN VIVO DE TRES ESPECIES DEL GENERO TILLANDSIA (Tillandsia pruinosa, Tillandsia magnusiana, y Tillandsia streptophylla) EN VIAS DE EXTINCION Y DE POTENCIAL USO SUSTENTABLE

Realizada en: Finca Clavela del Aire S.A., en la aldea Sajcavillá del municipio de San Juan Sacatepequez del departamento de Guatemala.

Presentado como requisito previo a optar el título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.

Esperando que el presente llene los requisitos necesarios para su aprobación, me suscribo.

Respetuosamente.

P. Agr. Erick Estuardo Calderón Oliva

CONTENIDO GENERAL

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN.....	3
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	5
4. MARCO TEÓRICO.....	7
4.1 Marco conceptual	7
4.1.1 Glosario de términos claves	7
4.1.1.1 Clonación.....	7
4.1.1.2 In vivo	7
4.1.1.3 Citoquinina.....	7
4.1.1.4 Desarrollo sustentable	7
4.1.2 Descripción de las bromelias.....	8
4.1.3 Clasificación de las bromeliáceas	8
4.1.3.1 Subfamilia bromelioideae.....	8
4.1.3.2 Subfamilia pitcairnioideae	8
4.1.3.3 Subfamilia tillandsioideae	9
4.1.4 Condiciones de las tillandsias en evaluación según los listados del CITES (convenio sobre comercio internacional de especies amenazadas de flora y fauna silvestre)	10
4.1.5 Condiciones del cultivo de las tillandsias	11
4.1.5.1 Cultivo.....	11
4.1.5.2 Floración.....	11
4.1.5.3 Crecimiento.....	11
4.1.5.4 Cuidados.....	12
4.1.5.5 Multiplicación	12
4.1.5.6 Enfermedades y plagas	12
4.1.6 Generalidades del cultivo de plantas en invernadero.....	13
4.1.7 Citoquinina	13
4.1.7.1 Citoquininas análogas sintéticas.....	14
4.1.7.2 Lugares de síntesis de las citoquininas	15
4.1.7.3 Mecanismo molecular de acción de las citoquininas	16
4.1.7.4 Mecanismo de acción de las citoquininas.....	17
4.1.7.5 Efectos fisiológicos de las citoquininas.....	18

4.1.7.6	Relación auxina –citoquinina	19
4.1.7.7	Bencilaminopurina	20
4.2	Marco referencial	21
4.2.1	Ubicación del área de estudio	21
4.2.3	Condiciones climáticas	21
4.2.4	Zona de vida.....	21
4.2.5	Características generales de las variedades de tillandsias utilizadas para el ensayo. 21	
4.2.5.1	<i>Tillandsia magnusiana</i> Wittm.	21
4.2.5.2	<i>Tillandsia pruinosa</i> Sw.	22
4.2.5.3	<i>Tillandsia streptophylla</i> Scheidw. ex E. Morren,	23
4.2.6	Palabras claves	25
5.	OBJETIVOS	26
5.1	Objetivo general.....	26
5.2	Objetivos específicos	26
6.	HIPOTESIS	27
7.	METODOLOGIA.....	28
7.1	Localización del experimento.....	28
7.2	Material experimental	28
7.3	Selección de la planta madre.....	28
7.4	Desinfestación del material experimental.	28
7.5	Preparación del equipo en el umbráculo	28
7.6	Inducción floral.....	29
7.7	Aplicación de BAP	29
7.8	Materiales e insumos utilizados	30
7.9	Niveles de 6-Bencilaminopurina utilizados.....	30
7.9.1	Tratamientos	30
7.10	Diseño Experimental	30
7.10.1	Unidades experimentales	30
7.10.2	Modelo estadístico	31
7.11	Análisis estadístico	31
7.12	Variables respuesta.....	31
8.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	32

8.1 Inducción floral.....	32
8.2 Evaluación de tratamientos, a las 28 semanas después del inicio de las aplicaciones de BAP	
33	
8.2.1 <i>T. magnusiana</i>	33
8.2.1.1 Variable número de brotes en <i>T. magnusiana</i>	33
8.2.1.2 Variable longitud de brotes para <i>T. magnusiana</i>	34
8.2.2 <i>T. pruinosa</i>	36
8.2.2.1 Variable número de brotes en <i>T. pruinosa</i>	36
8.2.2.2 Variable longitud de brotes en <i>T. pruinosa</i>	37
8.2.3 <i>T. streptophylla</i>	39
8.2.3.1 Variable número de brotes para <i>T. streptophylla</i>	39
8.2.3.2 Variable longitud de brotes para <i>T. streptophylla</i>	40
8.3 Análisis de costos promedio de la producción de tillandsias a nivel comercial.....	42
8.3.1 Costos de producción.....	42
8.3.2 Inversiones a realizar.....	43
8.3.3 Capital de trabajo.....	43
8.3.4 Flujo neto de efectivo.....	43
8.3.5 Tasa de descuento o costo de capital.....	44
8.3.6 Tasa interna de retorno (TIR).....	44
8.3.7 Valor actual neto (VAN).....	45
8.3.8 Relación beneficio-costo.....	46
9. CONCLUSIONES.....	47
10. RECOMENDACIONES.....	48
11. BIBLIOGRAFIA.....	49
12. ANEXO.....	52

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Dosis de 6-Bencilaminopurina en tillandsias para evaluar la estimulación y crecimiento de los meristemas.....	29
Cuadro 2 Análisis de varianza para la variable número de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos en <i>T. magnusiana</i>	33
Cuadro 3 Prueba de medias con comparador Duncan al 5% para la variable número de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos en <i>T. magnusiana</i>	33

Cuadro 4	Análisis de varianza para la variable longitud de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos para <i>T. magnusiana</i>	34
Cuadro 5	Prueba de medias con comparador Duncan al 5% para la variable longitud de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos en <i>T. magnusiana</i>	35
Cuadro 6	Análisis de varianza para la variable número de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos para <i>T. pruinosa</i>	36
Cuadro 7	Prueba de medias con comparador Duncan al 5% para la variable número de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos en <i>T. pruinosa</i>	36
Cuadro 8	Análisis de varianza para la variable longitud de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos.	37
Cuadro 9	Prueba de medias con comparador Duncan al 5% para la variable longitud de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos.	38
Cuadro 10	Análisis de varianza para la variable número de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos en <i>T. streptophylla</i>	39
Cuadro 11	Prueba de medias con comparador Duncan al 5% para la variable número de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos en <i>T. streptophylla</i>	39
Cuadro 12	Análisis de varianza para la variable longitud de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos en <i>T. streptophylla</i>	40
Cuadro 13	Prueba de medias con comparador Duncan al 5% para la variable longitud de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos en <i>T. streptophylla</i>	41
Cuadro 14	Costos requeridos para empezar a producir tillandsias.....	42
Cuadro 15	Inversión requerida para empezar a producir tillandsias.	43
Cuadro 16	Capital de trabajo.	43
Cuadro 17	Flujo neto de efectivo	44
Cuadro 18	Tasa interna de retorno	45
Cuadro 19	Valor actual neto	45

INDICE DE FIGURAS

Figura 1	Estructuras moleculares de las principales citoquininas análogas y sintéticas existentes utilizadas en micro propagación. (16).....	15
Figura 2.	La relativa concentración de auxinas y citoquininas y los requerimientos típicos para el crecimiento y morfogénesis (16).....	19

Figura 3. Estructura molecular de la 6-Bencilaminopurina (31).	20
Figura 4 <i>Tillandsia magnusiana</i>	22
Figura 5 <i>Tillandsia pruinosa</i>	23
Figura 6. <i>Tillandsia streptophylla</i>	25
Figura 7 Gráfica comparativa de número de brotes y longitud de brotes en función de dosis de Bap en <i>T. magnusiana</i>	35
Figura 8 Brote de <i>T. pruinosa</i> con dosis de 10 mg/l de bencilaminopurina.....	37
Figura 9 Gráfica comparativa de número de brotes y longitud de brotes en función de dosis de Bap en <i>T. pruinosa</i>	38
Figura 10 Brote de <i>T. streptophylla</i> con dosis de 15 mg/l de bencilaminopurina	40
Figura 11 Gráfica comparativa de número de brotes y longitud de brotes en función de dosis de Bap en <i>T. streptophylla</i>	41

“CLONACIÓN *IN VIVO* DE TRES ESPECIES DEL GENERO TILLANDSIA (*Tillandsia pruinosa*, *Tillandsia magnusiana*, y *Tillandsia streptophylla*) EN VIAS DE EXTINCION Y DE POTENCIAL USO SUSTENTABLE”

“*IN VIVO* CLONING OF THREE SPECIES OF TILLANDSIA GENUS (*Tillandsia pruinosa*, *Tillandsia magnusiana*, y *Tillandsia streptophylla*) ON THE WAY OF EXTINCTION AND OF POTENTIAL SUSTAINNABLE USE”

1. RESUMEN

En los últimos años ha aumentado la demanda de las tillandsias, principalmente en Europa, Asia y Estados Unidos de América, abarcando más de 35 diferentes especies. Debido a la demanda existente muchos exportadores buscan la forma de obtener la mayor cantidad de tillandsias, por lo que se han dado a la tarea de coleccionar directamente de la naturaleza. Por lo anterior las poblaciones naturales de tillandsias se han visto reducidas en una buena parte, en muchos casos llevándolas al punto de extinción, aunado a otros factores que también amenazan y reducen las poblaciones naturales vulnerables en el país, como la colecta de las mismas para utilizarlas en adornos navideños y la destrucción de los bosques por el avance de la frontera agrícola, lo que causa una disminución en su hábitat. Tal es el caso de especies como *Tillandsia pruinosa*, *Tillandsia magnusiana*, y *Tillandsia streptophylla*, las cuales actualmente se encuentran incluidas en los listados de especies amenazadas del CITES (Convenio internacional sobre el comercio de especies amenazadas de flora y fauna silvestre), en el apéndice I y II, que menciona que son especies en peligro de extinción que son o pueden ser afectadas por el comercio. Muchos de los productores de tillandsias no cuentan con un laboratorio de cultivo *in vitro*, y el tiempo para producción por semilla es demasiado largo, por lo que la mejor opción para obtener plantas sin colectas es la aplicación de citoquininas, en donde se rompe el efecto de las auxinas, lo que provoca una alta producción de hijuelos. En esta etapa es donde se guarda una parte para la producción de más plantas madres y el resto para la comercialización, estableciéndose un ciclo consecutivo.

En la presente investigación se evaluaron tres dosis de 6-Bencilaminopurina (5, 10 y 15 mg/l). Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con 4 tratamientos y 5 repeticiones, para un total de 20 repeticiones. Cada unidad experimental estuvo constituida por 5 tillandsias con características uniformes, en cuanto a edad, peso y número de hojas. Cada variedad se evaluó en forma independiente de las demás. Para evaluar los resultados obtenidos se realizó un análisis de varianza para las siguientes variables: número de brotes y longitud de los mismos. Se utilizó una prueba de medias con comparador Duncan.

La longitud de los brotes es determinante para que las plantas se puedan desarrollar en las mesas de crecimiento. Media vez lleguen a una longitud mínima las tillandsias pueden continuar su crecimiento normal. El comportamiento de las plantas fue que a mayor número de brotes era menor la longitud de los mismos y viceversa. Por lo anterior se tomó como mejor tratamiento la media de longitud que mejor se ajustara a la mayor producción de brotes supervivientes y se aceptaron las siguientes dosis: *T. Magnusiana* (15 mg/l), *T. pruinosa* (10mg/l) y *T. streptophylla* (15 mg/l), como las mejores para su reproducción. En el análisis de costos y ganancias se obtuvieron los siguientes datos: rentabilidad de Q 27, 635, relación beneficio/costo de 1.66, TIR de 49%, VAN de Q24, 653.13

Con base en los resultados obtenidos y la experiencia adquirida se recomienda lo siguiente: realizar investigaciones con dosis de fertilizantes en las tillandsias evaluadas para probar una mejora en las longitudes de brotes, tanto en mesas de crecimiento, como en madres reproductoras, aumentar el tiempo de espera de la planta madre reproductora en la fase de inducción floral para que se establezca fisiológicamente, desarrollar investigaciones sobre el tiempo que los brotes sobrevivientes pasan en las mesas reproductoras, y la forma en que se puede acelerar la etapa de venta.

La investigación se llevó a cabo en una de las fincas de la empresa Clavela del Aire S.A., ubicada en la aldea Sajcavillá, San Juan Sacatepéquez, Sacatepéquez.

2. INTRODUCCIÓN

Las tillandsias pertenecen a la familia *Bromeliácea*, con cerca de 2,000 especies, la cual está integrada por tres subfamilias: *Bromeloideae*, *Pitcarnioideae* y *Tillandsioideae*. De ellas, la subfamilia *Tillandsioideae* es la más numerosa con 550 especies descritas. Las tillandsias son un tipo de plantas epifitas, de la familia de las bromelias, que crecen en asociación sobre árboles. Son plantas lampiñas, cubiertas de escamas blancas, fruto capsular, alargado dehiscente en tres valvas, que almacenan agua en pequeños bulbos en vez de una roseta basal. Necesitan sol y sustratos ligeros. Generalmente crecen sobre árboles y rocas. Son originarias de América tropical y subtropical (México, Brasil y República Dominicana). Pueden estar tanto en interiores como en exteriores. Necesitan riego (sin encharcar), dos o tres veces por semana y fertilizante mensualmente (5).

La industria de plantas ornamentales, follajes y flores tiene una trayectoria en Guatemala de 30 años, durante la cual se ha constituido un grupo de 150 empresas productoras/exportadoras de las cuales 10 empresas se dedican a la producción de tillandsias. Estas producen alrededor de 80 especies y 200 variedades que generan 60,000 fuentes estables de trabajo. Con una actividad exportadora que evidencia una dinámica creciente y sostenida, con una tasa de crecimiento de 12%, que contribuye al ingreso de divisas al país con alrededor de 70 millones de dólares, los cuales se distribuyen en educación, salud, infraestructura entre otros al país (1).

En Guatemala existe una alta demanda de las plantas denominados “gallitos” (*Tillandsia sp.*) o “plantas del aire”. El principal uso de las tillandsias es como planta ornamental, sin embargo, existen reportes en los que se menciona que se utilizan partes aéreas como antiespasmódico y como medicina para infecciones de los ojos, reumatismo y como medicina para la tos y bronquitis. Las características que posee, hacen que goce de alta demanda en el extranjero, y una buena oportunidad para los productores, que ven en esta planta una forma de obtener remunerados ingresos económicos. El problema de esto es que no utilizan metodologías correctas para la obtención de las madres reproductoras que dan origen a los hijuelos que al crecer se mandan para el extranjero para su comercialización. Esto da como resultado una reducción en las poblaciones naturales de las mismas, aunado a problemas como destrucción de su hábitat. Muchos de los productores de tillandsias no cuentan con un laboratorio de cultivo in vitro, y el tiempo para producción por semilla es demasiado largo, además, si se trabaja con híbridos este

método no funciona al igual que si se trabajase con plantas con ciertas características genéticas que al trabajar con semilla podrían perderse, por lo que la mejor opción para obtener plantas sin colectas es por el método de la aplicación de citoquininas, en donde se rompe el efecto de las auxinas, lo que provoca una alta producción de hijuelos (18). En esta etapa es donde se guarda una parte para la producción de más plantas madres y el resto para la comercialización, estableciéndose un ciclo consecutivo.

Con la presente investigación se obtuvieron los siguientes resultados: a) una dosis óptima de bencilaminopurina que permitió obtener la mejor propagación asexual *in vivo* de tres especies de tillandsias en invernadero, b) costos y rentabilidad de la producción de tillandsias por medio de la aplicación de bencilaminopurina.

La investigación se llevó a cabo en una de las fincas de la empresa Clavela del Aire S.A., ubicada en la aldea Sajcavillá, San Juan Sacatepéquez, Sacatepéquez.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los últimos años las tillandsias han aumentado de popularidad, principalmente en Europa, Asia y Estados Unidos de América, abarcando más de 35 diferentes especies. Las exportaciones reportadas por la ventanilla única (CONAP) de tillandsias ascienden a más de 25,000 plantas anuales por especie. Los países de mayor importación de dichas especies son: Alemania, Estados Unidos de América, Italia, Holanda, Austria, Bélgica y México. Guatemala se ha constituido en uno de los principales exportadores de estas plantas (4).

Debido a la demanda existente muchos exportadores buscan la forma de obtener la mayor cantidad de tillandsias para llevar al extranjero. Varias empresas utilizan métodos controlados de reproducción tales como el método hormonal, *in vitro* y por semilla, pero otras se han dado a la tarea de coleccionar directamente de la naturaleza. Por lo anterior las poblaciones naturales de tillandsias se han visto reducidas en una buena parte, en muchos casos llevándolas al punto de extinción, aunado a otros factores que también amenazan y reducen las poblaciones naturales vulnerables en el país, como la colecta de las mismas para utilizarlas en adornos navideños y la destrucción de los bosques por el avance de la frontera agrícola, lo que causa una disminución en su hábitat. Tal es el caso de especies como *Tillandsia pruinosa*, *Tillandsia magnusiana*, y *Tillandsia streptophylla*, las cuales actualmente se encuentran incluidas en los listados de especies amenazadas del CITES (convenio internacional sobre el comercio de especies amenazadas de flora y fauna silvestre), en el apéndice I y II, que menciona que son especies en peligro de extinción que son o pueden ser afectadas por el comercio. El comercio de estas plantas deberá estar sujeto a una reglamentación particularmente estricta a fin de no poner en peligro aún mayor su supervivencia (12).

El procedimiento más práctico para la obtención de tillandsias para exportación es por medio de la aplicación de citoquininas en la fase de reproducción asexual, debido a que el método de reproducción *in vitro* requiere de altos costos de implementación y de control requerido, mientras que la técnica de reproducción sexual tarda demasiado tiempo para llegar al punto de venta. Actualmente no se cuenta con información disponible acerca del método hormonal, método que consiste en llevar a cabo clonaciones de tillandsias en un ciclo ininterrumpido que permite guardar plantas como madres reproductoras y producir suficientes plantas para exportación de una manera rentable.

En la empresa Clavela del Aire S.A. se han llevado a cabo pruebas preliminares de manera empírica en las tres especies a trabajar, las cuales dieron como resultado, que en las dosis mas bajas no hubo respuesta alguna y en las dosis medias y altas, en algunos casos hubo daños al tejido, y en la mayoría de casos como respuesta a la hormona una sobrepoblación de hijuelos. Por lo anterior se hizo necesario encontrar la dosis óptima que conlleve a una producción en donde las plantas obtenidas sean sanas y vigorosas que llenen los requisitos para exportación de manera rentable.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 Marco conceptual

4.1.1 Glosario de términos claves

4.1.1.1 Clonación

Clon, organismo o grupo de organismos que derivan de otro a través de un proceso de reproducción asexual (no sexual), sin unión de células o núcleos de células de los vegetales, de manera que el individuo resultante es, desde el punto de vista genético, idéntico al parental, con excepción de algunas diferencias a causa de las mutaciones. El término se ha aplicado tanto a células como a organismos, de modo que un grupo de células que proceden de una célula única también se considera un clon (21).

4.1.1.2 In vivo

Condiciones naturales en las que viven los organismos. Se emplea para referirse a los procesos biológicos que tienen lugar en organismos o células vivos bajo condiciones normales. (16).

4.1.1.3 Citoquinina

Son reguladores del crecimiento esenciales para controlar el crecimiento y la morfogénesis. Son grupos de sustancias que permiten la división de células de retoño, siendo esta la función más importante ya que cumplen con otras funciones (27).

En la proliferación de brotes laterales. Las concentraciones naturales de las citoquininas en las células dependen de cada especie (15).

4.1.1.4 Desarrollo sustentable

Es aquél que satisface las necesidades de la presente generación sin comprometer la capacidad de las futuras generaciones para satisfacer sus propias necesidades. Podemos decir que comprende todos los factores que intervienen para que una sociedad pueda desarrollarse adecuadamente. En otras palabras el uso sustentable es la utilización de un recurso renovable a lo largo del tiempo, el cual se explota sin reducir así las poblaciones originales (25).

Los límites de los recursos naturales sugieren tres reglas básicas en relación con los ritmos de desarrollo sostenibles (25).

- Ningún recurso renovable deberá utilizarse a un ritmo superior al de su generación.
- Ningún contaminante deberá producirse a un ritmo superior al que pueda ser reciclado, neutralizado o absorbido por el medio ambiente.
- Ningún recurso no renovable deberá aprovecharse a mayor velocidad de la necesaria para sustituirlo por un recurso renovable utilizado de manera sostenible (25).

4.1.2 Descripción de las bromelias

Las hojas tienen forma de cinta más o menos ancha, con márgenes lisos, dentados o espinosos; están reunidas en roseta. Son de color verde, a veces variegadas, otras veces manchadas con puntos o rayas (14).

Están recubiertas por una fina capa cerosa que impide la desecación. Del centro de la roseta surge un escapo floral. Las flores, siempre de colores vivos, están agrupadas en una espiga erecta o péndula; rodeadas por brácteas muy coloreadas (14).

4.1.3 Clasificación de las bromeliáceas

4.1.3.1 Subfamilia bromelioideae.

Reciben este nombre en honor al botánico sueco Olef Bromel. Las flores tienen ovario ínfero; el fruto es una baya. El margen foliar con frecuencia es espinoso. Entre los miembros de esta subfamilia se encuentran: *Acanthostachys*, *Aechmea*, *Ananas*, *Andreana*, *Androlepis*, *Araecoccus*, *Billbergia*, *Bromelia*, *Canistrum*, *Cryptanthus*, *Fascicularia*, *Fernsua*, *Gravisia*, *Greigia*, *Hohenbergia*, *Hohenbergiopsis*, *Neoglaziovia*, *Neoregelia*, *Nidularium*, *Ochagavia*, *Orthophytum*, *Portea*, *Pseudananas*, *Quesnelia*, *Ronnbergia*, *Streptocalyx*, *Wittrockia* (14).

4.1.3.2 Subfamilia pitcairnioideae

Bautizadas así en honor al Dr. Pitcairn, botánico y físico inglés (14).

Casi todas las tillandsias son terrestres. En unos géneros, las flores tienen ovario súpero; en otros géneros es ínfero. El fruto habitualmente es una cápsula que encierra varias semillas

desnudas o dotadas de apéndices. El margen foliar con frecuencia es espinoso. Entre los miembros de esta subfamilia se encuentran: *Abromeitiella*, *Ayensua*, *Brocchinia*, *Connellia*, *Cottendorfia*, *Deuterocohnia*, *Dyckia*, *Encholirium*, *Fosterella*, *Hochtia*, *Navia*, *Pitcairnia*, *Puya* (14).

4.1.3.3 Subfamilia tillandsioideae

Reciben este nombre en homenaje al Dr. Tillands, un profesor sueco destacado en el conocimiento de las mismas. La mayoría de las especies de este grupo son epifitas. Casi todas ellas tienen flores de ovario súpero. El fruto es una cápsula que contiene varias semillas plumosas (4).

La última revisión taxonómica del género fue realizada por Smith y Downs (1977) para la flora neotrópica, en la cual se consideraron siete subgéneros basados en la morfología floral. El género más relacionado con *Tillandsia sp.* es *Vriesea*, los que se separan exclusivamente por la ausencia o no, respectivamente, de dos apéndices en forma de lígula sobre la superficie abaxial de los pétalos (36). Sin embargo, estas consideraciones taxonómicas han generado controversia y discrepancias entre los especialistas (4). El género *Tillandsia sp.* contiene aproximadamente 460 especies (24) que se distribuyen desde el sur de los Estados Unidos hasta el norte de Argentina, incluyendo las islas de las Antillas, con un rango altitudinal que va desde el nivel del mar hasta alrededor de los 3800 m de altitud (36). Entre los miembros de esta subfamilia se encuentran: *Catopsis*, *Glomeropitcairnia*, *Guzmania*, *Mezobromelia*, *Tillandsia*, *Vriesea* (36).

En Guatemala se encuentra una gran diversidad de especies (alrededor de 28) y están distribuidas por todo el país, la mayoría con potencial para su comercialización especialmente hacia Estados Unidos y Europa (18). A continuación se describe la más reciente clasificación taxonómica de las tillandsias (20):

Dominio:	Archaea
Reino:	Plantae
Phyllum:	Magnoliophyta
Clase:	Liliopsida
Orden:	Bromeliales
Familia:	Bromeliaceae

Sub-familia:	Tillandsioideae
Género:	Tillandsia
Especies:	<i>Tillandsia pruinosa</i> , <i>T. magnusiana</i> , y <i>T. streptophylla</i> (6)
Nombres comunes:	Gallitos, claveles del aire, tillandsias

El atractivo de las tillandsias se debe a que tienen formas muy peculiares, son fáciles de cuidar, no requieren de tierra, maceta, ni mucha humedad y se facilita su transporte, aunado a que estas poseen propiedades medicinales. Estas plantas pueden soportar semanas sin ser regadas o rociadas y en algunas especies los períodos de sequía y humedad alterna, provocan enrollamiento de las hojas, dándoles apariencia “rizada” muy vistosa (25).

4.1.4 Condiciones de las tillandsias en evaluación según los listados del CITES (convenio sobre comercio internacional de especies amenazadas de flora y fauna silvestre)

Los listados se han elaborado tomando en cuenta los requerimientos técnicos y administrativos del CONAP para proteger aquellas especies que en el ámbito interno requieran autorización para su aprovechamiento y comercialización. Para ello el CONAP los ha dividido en 3 índices según su vulnerabilidad (12).

1. Categoría 1: Incluye las especies que se encuentran en peligro de extinción. Las especies en esta categoría podrán ser utilizadas exclusivamente con fines científicos y reproductivos. Se prohíbe la libre exportación y comercialización de estas especies extraídas de la naturaleza. Podrán comercializarse aquellos especímenes, partes y derivados que se han reproducido por métodos comprobados (12).
2. Categoría 2: Incluye aquellas especies de distribución restringida a un solo tipo de hábitat (endémicas), podrán ser utilizadas de acuerdo a los siguientes lineamientos:
 - Con fines científicos y para reproducción.
 - Con fines comerciales su aprovechamiento se regulará a través de planes de manejo, los que serán aprobados siempre y cuando garanticen la supervivencia de la especie o especies de que se trate. Su uso requerirá de un estudio de impacto ambiental (EIA) (12).

3. Categoría 3: Son especies, que si bien en la actualidad no se encuentran en peligro de extinción, podrían llegar a estarlo si no se regula su aprovechamiento. Podrán ser utilizadas de acuerdo a los siguientes lineamientos:

- Con fines científicos y para reproducción.
- Con fines comerciales podrán ser aprovechadas conforme planes de manejo técnicamente elaborados y debidamente aprobados por el organismo o institución competente. Los planes de manejo deberán garantizar la estabilidad de las poblaciones de las especies aprovechadas (12).

Las tillandsias en evaluación se encuentran en la siguiente situación:

- *T. magnusiana* (Categoría 1)
- *T. streptophylla* (Categoría 2)
- *T. pruinosa* (Categoría 1) (12).

4.1.5 Condiciones del cultivo de las tillandsias

4.1.5.1 Cultivo

Las variedades de follaje gris deben colocarse en un emplazamiento luminoso, con temperatura invernal entre 12 y 14°C. Las de follaje verde o variegado prefieren una situación de semisombra, con temperatura invernal entre 16 y 18°C. Todas las bromeliáceas prefieren pasar el invierno en un emplazamiento luminoso (18).

4.1.5.2 Floración

Unas especies florecen prácticamente en cualquier época del año; otras tienen periodos más precisos. La floración se puede favorecer aplicando algún producto que estimule la floración como el etileno (18).

4.1.5.3 Crecimiento

En general es lento. El periodo de crecimiento va de marzo a agosto; el periodo de reposo se extiende desde agosto hasta febrero. En el periodo de actividad es necesario aumentar la humedad ambiental (18).

4.1.5.4 Cuidados

Se riegan y se asperjan fuertemente durante la época seca, si las plantas se encuentran al aire libre y constantemente si se encuentran en un invernadero. Una vez al mes añadir a esta agua un abono foliar diluido o un abono para orquídeas. Si se trata de especies que requieren agua para florear adecuadamente, cuidar que siempre haya agua en el fondo de la roseta (18).

Durante el periodo de reposo se debe prescindir del abonado, espaciar los riegos y vaciar el agua de la roseta. Mantener la temperatura ambiental entre 15 y 18 (18).

Eliminar la base de la madre tan pronto como comience a tomar color marrón. Si el ambiente es seco, colocar la maceta sobre una bandeja con bolas de arcilla mojados para aumentar así el grado de humedad ambiental (18).

Las epifitas que viven en soportes leñosos u otros, se deben vaporizar frecuentemente durante el verano con agua no calcárea o agua de lluvia (se pueden dejar tranquilamente durante la noche en un cubo de agua). Cuidar que haya renovación de aire (18).

4.1.5.5 Multiplicación

Por separación de vástagos laterales en primavera. Cortar y dejar secar la herida durante 1 ó 2 días; plantar en una mezcla de mantillo de hojas, corteza de pino triturada y turba a partes iguales (18).

Para poner las tillandsias sobre madera o corcho, los vástagos se sujetan inicialmente al soporte con materiales suaves (medias viejas, elásticos para el cabello...) o con pegamentos a base de caucho. Los retoños pueden florecer al año siguiente (18).

Si se multiplican por semillas, habrá que esperar unos 4 ó más años para ver florecer las nuevas plantas (18).

4.1.5.6 Enfermedades y plagas

El sol directo puede quemar las hojas, apareciendo manchas marrones causadas por quemaduras. Si el ambiente es demasiado seco, las bromeliáceas son susceptibles de sufrir el ataque de arañas rojas (*Tetranychus urticae*) (18).

También son sensibles a los ataques de cochinilla algodonosa (*Pseudococcus spp.*). Demasiada humedad en invierno puede provocar la aparición de hongos tales como: *Corynespora spp.* que produce unas manchas oscuras con borde claro, provocando una defoliación y *Colletotrichum spp.* que produce lesiones en toda la planta (18).

En las tillandsias, sobre todo si están en el exterior, pueden verse invadidas por hormigas (*Atta sp.*) sin que ello signifique un problema para la planta (18).

4.1.6 Generalidades del cultivo de plantas en invernadero

La técnica de producción de plantas en invernadero han avanzado a tal punto que ahora es posible conseguir replicas idénticas de plantas madres en cualquier época del año en solo la mitad del tiempo que normalmente tomaría con el uso de semillas botánicas (28).

Además, las pequeñas plantas producidas bajo techo requieren menos espacio para desarrollarse, se conservan libres de patógenos si la planta madre está libre de ellos, y si se toman las precauciones para evitar la infección (28).

Todas las ventajas del sistema de clonación son aprovechadas actualmente en muchas partes del mundo con fines diversos (28).

4.1.7 Citoquinina

Las citoquininas son potentes factores del crecimiento para la diferenciación y son sustancias que regulan la división celular (3).

Las citoquininas fomentan el crecimiento de las yemas laterales y se oponen así a la auxina; también favorecen la formación de yemas. Además, las plantas producen, por descomposición parcial de ciertos hidrocarburos, el gas etileno, que a su vez regula la maduración y abscisión de los frutos (3).

Existen tres citoquininas utilizadas frecuentemente, estas son: Kinetina (KIN), Benciladenina (BA), o 6-Bencilaninopurina (BAP) que es una citoquinina sintética y N6-(2-isopentyl) -adenina (ZIP). El BAP es la más efectiva para el cultivo de meristemas y brotes. Kin y Zip son menos efectivas, además de que su costo es más alto y difícil de conseguir (3).

Pero en general, es aparente que BAP es la citoquinina más efectiva para estimular la proliferación de brotes o retoños laterales (3).

El metabolismo de las citoquininas está cercanamente relacionado con el ADN y ARN_t al ser examinadas ambas síntesis (15). Las citoquininas representan químicamente a un grupo homogéneo (10).

En el tejido de la planta las citoquininas actúan:

- 1) Como un estimulador para la división celular.
- 2) Como una causa para el desarrollo de yemas axilares
- 3) Como un control de la división celular.
- 4) Como un estimulante de la germinación de la semilla.
- 5) Trabajando conjuntamente con las auxinas, contrarrestando el rol de estas en el control de la dominancia apical. Y en ciertas combinaciones con auxinas son necesarias para permitir la organogénesis en el cultivo de tejidos. En el cultivo de tejidos las concentraciones de ciertas citoquininas pueden ser específicas pero no en el caso de BA o BAP (15).

4.1.7.1 Citoquininas análogas sintéticas

Las citoquininas naturales como la zeatina y el zip son usadas en la investigación, aunque no se emplean rutinariamente en los laboratorios comerciales por su costo. Por fortuna varios químicos análogos de las citoquininas naturales, aparte de la cinetina, se han preparado, y se han probado que son altamente activas como las citoquininas, principalmente están sustituidos por derivados de 6-adenina. Algunos otros compuestos menos estructurales poseen actividad citocinínica, como por ejemplo 4-alkylaminopteridinas y la 6-bencilaminopurina. Algunos de estos análogos son reportados más activos que la cinetina. La benciladenina (BA) particularmente es efectiva en promover la morfogénesis (13).

En la figura 1 tenemos formas de las estructuras moleculares de las principales citoquininas análogas y sintéticas más utilizadas, éstas muestran los anillos dobles característicos como en el BAP, PBA y la kinetinas que son similares en su modo de acción (13).

Entre la mayoría de citoquininas usadas en micropropagación están:

KINETINA	6-furfulaminopurina
BAP	6- bencilaminopurina
BA	benciladenina
PBA	6-(bencilamino)-9-(2tetrahid ropyranil)-9H-purina.
SD 8339	N-bezyl-9-(2tetrahydropranyl)-adenina (13).

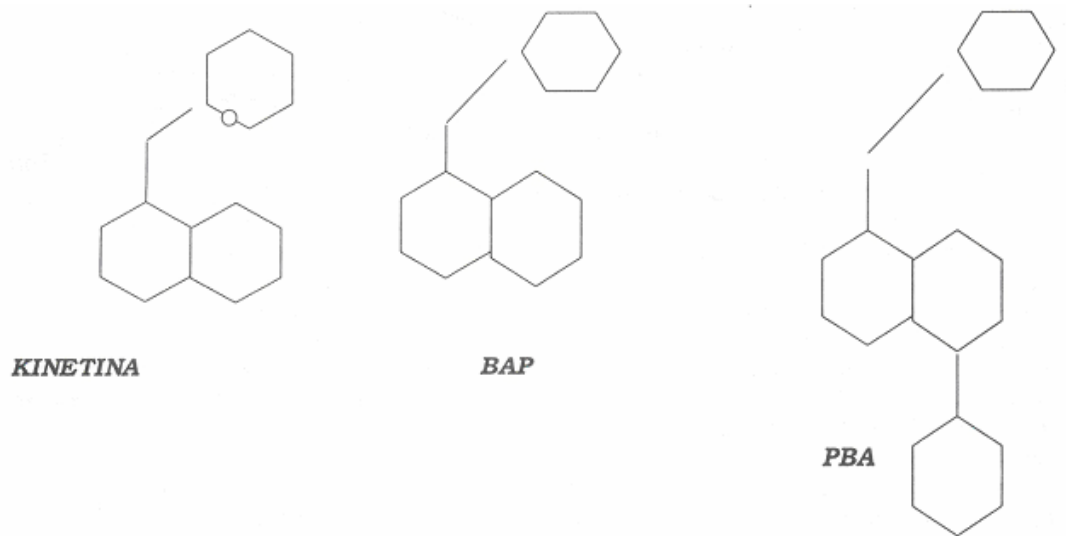


Figura 1 Estructuras moleculares de las principales citoquininas análogas y sintéticas existentes utilizadas en micro propagación. (16)

La zeatina ocurre naturalmente al igual que la dimetil-aminopurina y la isopentil-adenina. Dentro de las citoquininas el SAP actualmente se utiliza más que la kinetina y la zeatina, ya que es un compuesto muy activo y se encuentra fácilmente disponible a un precio razonable (33).

4.1.7.2 Lugares de síntesis de las citoquininas

La síntesis de las citoquininas ocurre en hojas jóvenes, como también en la zona meristemática, en semillas en germinación, flores y frutos. El lugar donde se encuentra en abundancia, es en la raíz (13).

Las citoquininas son producidas continuamente en las raíces, se sintetizan principalmente en los ápices radiculares y son transportados por el xilema al tallo y al resto de la planta, aunque también se conducen a través del floema, este transporte puede ser tanto de órgano a órgano

como de raíz al tallo o viceversa, donde cabe la posibilidad de un reciclado o circulación de citoquininas (5,8). El ápice radicular es considerado el órgano sintetizador de citoquininas (5).

Altas concentraciones de citoquininas (0.5 a 10 mg/l) generalmente retrasan o inhiben la formación de raíces y también previene el crecimiento de éstas y promueven el efecto de las auxinas en la iniciación de las raíces (5).

4.1.7.3 Mecanismo molecular de acción de las citoquininas

Un hecho significativo que, indirectamente, proporciona las bases para una evacuación de los mecanismos de acción citocinínica es la observación realizada en un buen número de casos que demuestra la presencia de citoquininas unidas a pentosas fosforizadas para formar nucleósidos. A la primera categoría pertenecen nucleósido de la zeatina mientras que pertenece a la segunda el nucleosido de 6(-dimetilamino)-purina (33).

Lo verdaderamente significativo de estas estructuras es que han podido ser aisladas de ácidos ribonucleicos de transferencia de distintas fuentes, tanto animales como vegetales del micoplasma del hombre según expresión de Skoog (33). De aquí podría deducirse que las citoquininas son elementos normales en las secuencias polinucleóticas. No se ha encontrado, sin embargo, en RNA_m ni en RNA_r, ni siquiera en todos los RNA_t, quizá por la baja concentración de citoquininas que existe no permita su extensión a otras categorías de ácidos nucleicos (33).

Citoquininas en RNA_t han sido descritas para RNA_t tyr, RNA_t Ph, RNA_t ser, RNA_t Try, RNA_t Cys, y RNA_t leu, siendo en todos estos casos adyacente a anticodones traductores de codones con U inicial. También se ha encontrado una N-(purin-6-ilcarbomoil) treonina constituyente de RNA_t que reconocen codones con A inicial, tales como RNA_t que reconocen codones con A inicial tales como RNA_t leu, RNA_t Met y RNA_t se, aislados de distintas fuentes. En todos los casos la citoquinina es adyacente al final 3 del anticodon (33). Esta localización tan particular plantea dos problemas obvios, uno respecto a la biosíntesis de citoquininas y su individualidad como especies químicas y otro respecto a su función, relativo al primer caso, cabría preguntarse si la citoquinina, constituida como tal, se incluye en la secuencia del RNA_t o es una base del RNA_t, previamente sintetizado modificada a posteriori para ser transformado a citocinina trabajando con *Lactobacillus acidophilus*, demostró que mevolonato-214 C y acetato 214C podrían incorporarse al RNA_t, del que, posteriormente, podrían aislarse 6(-isopentil)-adenosina marcada. Similares resultados fueron

obtenidos por o que parece indicar el sustituyente N6 puede ser adicionado posteriormente a la inclusión de la base en la secuencia polinucleotídica (33).

Bajo el punto de vista funcional, el hecho de que la posición del anticodón este marcada por la citocinina adyacente puede indicar una señal de reconocimiento para el mensajero. El anticodón está formado por tres bases situadas en una zona libre del RAN_t (se denomina libre porque son segmentos del polinucleótido cuyo número de bases no es suficiente para establecer puentes de hidrógeno) que son complementarias a tres bases de RNA_m que forma el codón. De esta manera, la relación codón - anticodón permite el proceso de traducción. La señal suministrada por la citocinina prevendría la posibilidad de que sea reconocido un triple incorrecto por el codón. También existe la posibilidad de una función citocinínica de mantenimiento de la estructura espacial del segmento libre que contiene el anticodón, necesidad que viene impuesta, como se ha dicho antes, por la falta de puentes de hidrógeno que proporcionan mayor estabilidad. Giberalinas y citoquininas, según lo expuesto, pueden ejercer su efecto hormonal a dos niveles distintos en el proceso de biosíntesis de proteínas (5).

Dicho en otras palabras, las citoquininas no se encuentran en todos los ácidos ribonucleicos (RNA), y en los que se ha encontrado existe en muy baja concentración. Por lo anterior no permite su extensión a otras categorías de ácidos nucleicos. Las citoquininas se han encontrado en algunos RNA de transporte. En estos RNA de transporte se ha encontrado que son adyacentes a citoquininas y anticodones traductores de codones con "U" inicial y con "A" inicial. Lo anterior plantea una pregunta: ¿Es parte de la secuencia o es una base previamente sintetizada para formar citoquinina? Bajo del punto de vista funcional el hecho de que este anticodón este con la citoquinina puede indicar una señal para el RNA mensajero. El codón forma tres bases que son complementarias para lo anticodones. Así el proceso codón-anticodón permite la traducción y de esta manera se empieza el proceso de producción de proteínas. La citoquinina permite que se complemente con el codón correcto (5).

4.1.7.4 Mecanismo de acción de las citoquininas

Las citoquininas promueven la acumulación, incluso la entrada de calcio a la célula, esto va asociado a una proteína llamada Calmodulina. Dicho compuesto promueve la síntesis de proteínas. El modo de acción de la citoquininas es a través de las síntesis de proteínas específicas para el desencadenamiento de la mitosis. Dentro de la misma la kinetina ha recibido mucha

atención como una sustancia estimuladora de la división celular no se ha demostrado que esté presente como un compuesto natural y se reconoce como un artefacto. Actualmente las citoquininas comprenden sustancias de división celular, y sustancias promotoras (35).

La forma de acción de las citoquininas en la planta es incierta. Parecen estar implicadas en el metabolismo del azúcar. Se ha reportado tanto las disminuciones como los aumentos en la actividad específica de las enzimas de las rutas de pentosa y fosfato glicolicos y oxidativos. Se ha demostrado que en el cultivo de tejidos cuando se dan citoquininas marcadas éstas aparecen en la cadena de RNA a la que se incorporan por llevar adinera en su molécula, esta incorporación es probable que tenga un efecto en la expresión fisiológica de los genes, pero no se ha demostrado. En la célula se encuentran proteínas que se conjugan con las citoquininas, pero se desconoce la función. La cinetina como la bencilaminopurina induce a la aparición de nuevas clases de proteínas en las raíces nuevas (5).

4.1.7.5 Efectos fisiológicos de las citoquininas

Las citoquininas se adicionan al medio de cultivo para promover la división celular y diferenciación de yemas y brotes adventicios de callo y órganos, que promueven la embriogénesis somática además de inhibir la formación de raíces (19).

El éxito del tratamiento con citoquininas, induce el crecimiento de muchos y pequeños brotes de cada explante, después de cuatro a seis semanas. La formación de brotes adventicios, ya sea directa del explante o indirectamente a través de la formación del callo, es regulada por la relación de auxinas y citoquininas (19).

Las citoquininas son, típicamente las hormonas de la división celular activando el proceso directamente (como efecto de la activación metabólica), a comparación de las otras hormonas que lo hacen de forma indirecta. Además determinan la dominancia apical en interacción con las auxinas. Los fenómenos estimulados con las citoquininas son característicos de las plantas y tejidos jóvenes, por lo que parecen ser factores de la juventud, por lo que la deficiencia provoca senescencia (19).

4.1.7.6 Relación auxina –citoquinina

La formación de brotes inducidos en callos, usualmente se utiliza niveles bajos de auxinas y niveles elevados de citoquininas, en el medio de cultivo de crecimiento. Se han descubierto, aspectos de diferenciación celular y organogénesis en cultivo de tejidos y órganos, controlados por una interacción entre citoquininas y auxinas (5).

En la figura 2 se muestra el balance entre los dos tipos de reguladores que es usualmente requerido para iniciar el crecimiento de diferenciación en cultivo de tejidos.

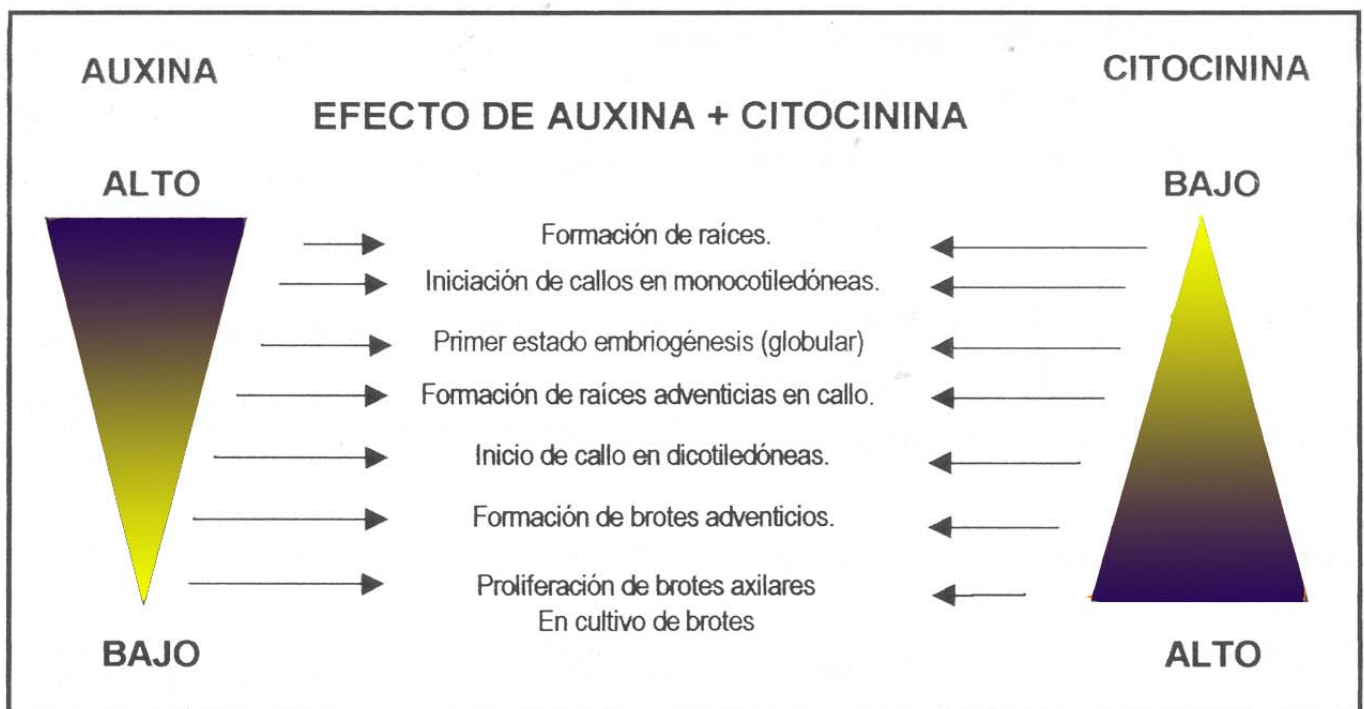


Figura 2. La relativa concentración de auxinas y citoquininas y los requerimientos típicos para el crecimiento y morfogénesis (16).

Las proporciones relativas de auxinas y citoquininas no siempre producen el resultado típico descrito anteriormente, por ejemplo:

- 1 La proliferación de brotes axilares en algunas especies es prometedor con la presencia de una auxina o citoquinina.
- 2 Para tejidos en liliópsidas frecuentemente se induce la formación de callo por cultivo, con altos niveles solo de auxina, las citoquininas no son esenciales.

- 3 La órganogénesis en liliópsidas es frecuentemente prometedor por la transferencia de cultivo a un medio sin auxina, o por la concentración reducida de una alta actividad auxínica, semejante al 2-4-D o reemplazar el 2-4-D por otra auxina (16).

Un balance entre reguladores del crecimiento auxinas y citoquininas, la mayoría se requiere con frecuencia para la formación de brotes adventicios y raíces meristemáticas. Las concentraciones requeridas de cada tipo de regulador difieren considerando el cultivo de la planta, las condiciones de cultivo y los componentes usados, e interacción en tres las dos clases de reguladores son frecuentemente complejos, y más que una combinación de sustancias es probable que se produzca óptimos resultados (5).

4.1.7.7 Bencilaminopurina

Dentro de las citocininas el BAP (6-bencilaminopurina), se utiliza actualmente más que la kinetina y la zeatina, debido a que es un compuesto muy activo y se encuentra fácilmente disponible a un precio razonable. Particularmente es efectiva en promover la morfogénesis, tiene su punto óptimo en cuanto a la concentración más utilizada de 0.1 a 2.0 mg/l Siendo su peso molecular de 225.26 g/mol, su fórmula química $C_{12}N_{11}N_5$, el grado de pureza es de 99.9% y en la figura 3 se presenta su estructura molecular (21,31,38).

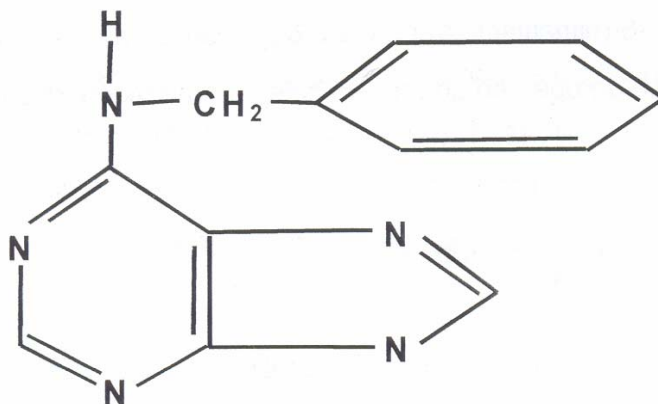


Figura 3. Estructura molecular de la 6-Bencilaminopurina (31).

4.2 Marco referencial

4.2.1 Ubicación del área de estudio

El estudio se realizó en la empresa exportadora de bromelias “Clavela del Aire S.A.”, ubicada en la aldea Sajcavillá, San Juan Sacatepéquez, Sacatepéquez, a 28 kilómetros de la ciudad capital. Se encuentra comunicada con el municipio de San Juan Sacatepéquez por un camino de 3 kilómetros, lo mismo con el municipio de San Pedro Sacatepéquez. La extensión territorial del municipio es aproximadamente de 17.5 Km² (26).

4.2.3 Condiciones climáticas

El clima de la región según Thornthwaite presenta las siguientes características: El clima de la aldea es templado, con invierno benigno, bosque húmedo y verano seco (B'2 b'B2) (37). Se marcan dos estaciones invierno y verano. Las precipitaciones generalmente se inician en abril y finalizan en noviembre, pero las precipitaciones mayores de 100 mm, ocurren desde mediados de abril hasta mediados de octubre. El mes más frío es febrero y el más cálido marzo (26).

4.2.4 Zona de vida

Según Holdridge la zona de vida es bosque húmedo montano bajo subtropical. El régimen de precipitación pluvial es de 1200 mm anuales, la biotemperatura es de 18° C, la evapotranspiración potencial es de 1060 mm (26).

4.2.5 Características generales de las variedades de tillandsias utilizadas para el ensayo.

Se utilizarán tres especies de tillandsias, todas ellas en vías de extinción, que serán las siguientes: *Tillandsia pruinosa*, *Tillandsia magnusiana*, *Tillandsia streptophylla*.

4.2.5.1 *Tillandsia magnusiana* Wittm.

Epífitas hasta 15 cm en flor, acaules (planta que no presenta tallo). Hojas 8-15 cm, en una roseta densa globosa; vainas 0.4-0.6 cm de ancho, pajizas, glabras proximalmente entre sí volviéndose densamente patentes cinéreas distalmente; láminas 0.15-0.3 cm de ancho, lisas, densamente patente cinéreas, angostamente triangulares, atenuado filiformes, involutas distalmente. Escapo muy reducido hasta 1.5 cm, más corto que las hojas y oculto por ellas; brácteas foliáceas mucho más largas que el escapo y la inflorescencia. Inflorescencia 1-2 cm, simple, erecta a decurvada, con (1-)2-3 flores. Brácteas florales (2.5-)3.5-4.8 cm, mucho más

largas que los sépalos, erectas, ecarinadas, lisas a finamente nervadas, esparcida a algo densamente cinéreo pelosas, cartáceas a subcoriáceas. Flores dísticas o polísticas, sésiles o con pedicelos hasta 2 mm; sépalos 1.5-2.4 cm, lisos, cartáceos a subcoriáceos, glabros, libres, los 2 posteriores carinados; pétalos violeta. Cápsulas casi tan largas como o más cortas que las brácteas florales (6).



Figura 4 *Tillandsia magnusiana*

4.2.5.2 *Tillandsia pruinosa* Sw.

Hierbas arrosetadas, epífitas, en flor de 5-13 cm de alto, las rosetas bulbosas, de 3-11 cm de diámetro en su parte más ancha, solitarias o a veces en pares o tercias, acaules. Hojas pocas, las vainas verdes oscuras, ampliamente ovadas a suborbiculares, cóncavas, de 1-3 cm de largo, 1.7-2.5 cm de ancho, formando un pseudobulbo, densamente cinéreo-lepidotas en ambas superficies, glabrescentes hacia la porción basal, las láminas verdes oscuras, angostamente triangulares, involutas, de 4-12 cm de largo, 5-9 mm de ancho en la base, densamente cinéreo-lepidotas en ambas superficies, tenuadas en el ápice, por lo general irregularmente recurvadas. Inflorescencia terminal, erecta, simple, raramente compuesta, entonces con hasta 3 espigas, el escapo cilíndrico, muy corto o bien ausente, de 3-5 cm de largo, ca. 3 mm de diámetro, cubierto totalmente por las vainas de las hojas y de las brácteas; brácteas del escapo, cuando presentes, foliáceas, similares a las hojas, de 6.5-12 cm de largo, las espigas aplanadas, de 2.5-5 cm de largo, 1.8-2.5 cm de ancho; brácteas florales rosadas, ovadas a ovado-oblongas, falciformes, de 2.3-2.6 cm de largo, 8-10 mm de ancho cuando desdobladas, aplanadas, más largas que los entrenudos, imbricadas, inconspicuamente carinadas hacia el ápice, densamente cinéreo-lepidotas, agudas; flores dísticas, erectas, 5-8 por espiga, actinomorfas, tubiformes, sésiles; sépalos verdes, elípticos, de 1.3-1.9 cm de largo, 5-6 mm de ancho, glabros o esparcidamente lepidotos, redondeados en el ápice, los dos posteriores carinados; pétalos blancos, libres, oblongos, de 3-3.1 cm de largo, 4-5 mm de ancho,

redondeados a agudos en el ápice; estambres desiguales, más largos que los pétalos, los filamentos blancos, filiformes, de ca. 3.5 cm de largo, las anteras oblongas; ovario verde, oblongo, de ca. 1 cm de largo, ca. 2.5 mm de diámetro, el estilo blanco, filiforme, de ca. 3.8 cm de largo. Cápsula verde, fusiforme, mucronada a rostrada, de 2.4-3 cm de largo, ca. 4.5 mm de diámetro; semillas pardas oscuras, fusiformes, de ca. 5 mm de largo, con un apéndice plumoso blanco, de ca. 2 cm de largo (6).

Distribución. Estados Unidos (Florida), México (Chiapas, Oaxaca y Veracruz), Centroamérica, Las Antillas Mayores y Sudamérica hasta Brasil y Ecuador (6).

Tipos de vegetación. Selva alta perennifolia y selva media y alta subperennifolia.

Floración. Enero-mayo.



Figura 5 *Tillandsia pruinosa*

4.2.5.3 *Tillandsia streptophylla* Scheidw. ex E. Morren,

Hierbas arrosetadas, epifitas, en flor de 35-45 cm de alto, las rosetas bulbosas, de 15-26 cm de diámetro en su parte más ancha, solitarias, acaules. Hojas numerosas, las vainas pardas en ambas superficies, oblongas, cóncavas, de 5-7 cm de largo, 2.5-4.5 cm de ancho, formando un pseudobulbo, densamente pardo-lepidotas, las láminas verde-grisáceas, estrechamente triangulares, de 15-35 cm de largo, 15-30 mm de ancho en la base, densamente blancas lepidotas en ambas superficies, largamente atenuadas en el ápice, por lo general irregularmente recurvadas y retorcidas. Inflorescencia terminal, erecta, compuesta, 2-pinnada, con 6-14 espigas, el escapo

cilíndrico, de 17-20 cm de largo, ca. 3 mm de diámetro, cubierto totalmente por las vainas de las brácteas; brácteas del escapo foliáceas, de 12-25 cm de largo, similares a las hojas en forma y tamaño, reduciéndose gradualmente hacia la parte distal del escapo, las espigas aplanadas, de 8-15 cm de largo, 1-2 cm de ancho, pedunculadas, los pedúnculos de hasta 2 cm de largo; brácteas primarias rosadas hacia su parte basal, verdes hacia su parte apical, vaginiformes a cortamente foliáceas, de 2.5-8 cm de largo, 6-18 mm de ancho, densamente blancas lepidotas en ambas superficies, acuminadas a atenuadas en el ápice; brácteas florales verdes, ovadolanceoladas, de 2-2.4 cm de largo, 8-11 mm de ancho cuando desdobladas, aplanadas, más largas que los entrenudos, imbricadas, lisas, carinadas sólo en el ápice, densamente cinéreo-lepidotas, acuminadas; flores dísticas, erectas, 5-10 por espiga, actinomorfas, tubiformes, subsésiles; sépalos verdes, elípticos, de 1.5-1.8 cm de largo, 4.5-5 mm de ancho, glabros, agudos en el ápice, los dos posteriores carinados y cortamente connados en la base; pétalos libres, violetas a lilas en su parte apical, blancos en su base, oblongo-espátulados, de 3.3-4 cm de largo, 5-7 mm de ancho, redondeados a agudos, excurvados, revolutos en el ápice; estambres subiguales, más largos que los pétalos, los filamentos blancos, filiformes en su porción basal, violetas a lilas, aplanados en su porción apical, de 4.2-4.4 cm de largo, las anteras negras, oblongas, de 3-3.5 mm de largo; ovario verde, ovoide, de 3.5-3.8 mm de largo, ca. 2 mm de diámetro, el estilo blanco en su parte distal, filiforme, de ca. 4 cm de largo, el estigma blanco. Cápsula verde, fusiforme, mucronada, de 2.5-3.5 cm de largo, 3-4 mm de diámetro; semillas pardas rojizas, fusiformes, de 3-3.5 mm de largo, con un apéndice plumoso blanco, de 2.2-2.5 cm de largo (6).

Distribución. México (Campeche, Chiapas, Oaxaca, Quintana Roo, Tabasco, Veracruz y Yucatán) y Centroamérica (6).

Altitud. 0-1,400 m snm.

Tipos de vegetación. Bosque caducifolio; bosque de encino; bosque de pino-encino; manglar; selva alta perennifolia; selva baja caducifolia; selva mediana perennifolia; selva mediana subperennifolia; vegetación riparia y vegetación secundaria (6).

Floración. Mayo-junio.



Figura 6. *Tillandsia streptophylla*

4.2.6 Palabras claves

Tillandsia pruinosa, *Tillandsia magnusiana*, *Tillandsia streptophylla*, *in vivo*, propagación, clonación, bencilaminopurina.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Establecer la dosis de 6-Bencilaminopurina (BAP) que produce el mejor efecto en la propagación in vivo de cada una de las variedades de *Tillandsia*: *T. magnusiana*, *T. pruinosa*, *T. streptophylla*.

5.2 Objetivos específicos

- Establecer la dosis de 6-Bencilaminopurina que induzca la mayor proliferación de brotes y su supervivencia para cada una de las variedades en estudio.
- Determinar la dosis de 6-Bencilaminopurina, que provoque la inducción de mayor longitud de brotes, para cada una de las variedades de tillandsias evaluadas.
- Conocer los costos de la implementación de los tratamientos, y determinar su rentabilidad a nivel comercial.

6. HIPOTESIS

- Existe por lo menos un nivel de 6-Bencilaminopurina (BAP) que induzca a la mayor proliferación de brotes, para cada una de las variedades en estudio.
- Por lo menos una dosis de 6-Bencilaminopurina (BAP) presenta mayor número de brotes sobrevivientes en la fase de multiplicación.
- Al menos un nivel de 6-Bencilaminopurina induce a la mayor longitud de brotes, para cada una de las variedades de tillandsias en evaluación.

7. METODOLOGIA

7.1 Localización del experimento

La presente investigación se realizó en uno de los invernaderos de la empresa “Clavela del Aire S.A.”, ubicada en la aldea Sajcavillá, San Juan Sacatepéquez, Sacatepéquez. La finca se encuentra con instalaciones, equipo y condiciones adecuadas para que se lleve adecuadamente el trabajo de propagación de las variedades de tillandsias.

7.2 Material experimental

El material se obtuvo, seleccionando 25 plantas por tratamiento, por cada especie (*T. magnusiana*, *T. streptophylla* y *T. pruinoso*), para un total de 400 plantas que fueron extraídas de las mesas de reproducción que existen en la finca.

7.3 Selección de la planta madre

Para la selección de las plantas madre se escogieron todas ellas de características uniformes. Al momento de escoger las plantas se verificó que fueran vigorosas, sin variación fenotípica, libres de plagas y enfermedades, con un año de edad, y uniformes en peso y número de hojas. Se trabajó con una diferencia en peso de \pm el 5 %.

7.4 Desinfestación del material experimental.

Al material experimental se le quitó todo tipo de hoja muerta y residuos que pudiera tener. Luego los excesos de raíz se cortaron con tijera. Posteriormente el material fue sometido a la siguiente desinfestación:

- Aspersión de insecticida Metil-Parathion
- Aspersión de fungicida Azoxistrobina.

7.5 Preparación del equipo en el umbráculo

Una vez seleccionadas las plantas se procedió a llenar con agua tres recipientes plásticos de 16 galones para utilizar en el riego y aspersiones aplicadas en la investigación, de esta manera la calidad del agua fue la misma. Posteriormente se reguló el pH del agua aplicando ácido fosfórico.

Posteriormente se prepararon las mezclas de fertilizantes en las cuales se utilizó:

- (nitrógeno (N) 110 gr/l, fósforo expresado como (P₂O₅) 80 gr/l, potasio expresado como (K₂O) 60 gr/l, azufre (S) 1500 gr/l, boro (B) 400 gr/l, calcio (Ca) 250 gr/l, cobalto (Co) 20 gr./l, cobre (Cu) 400 gr/l, hierro (Fe) 500 gr/l, magnesio (Mg) 250 gr/l, manganeso (Mn) 400 gr/l, molibdeno (Mo) 50 gr/l, zinc (Zn) 800 gr/l, clorhidrato de tiamina 40 gr/l, ácido indolacético 30 gr/l.). Dosis: 13 ml / l
- Fertilizante de composición 11 - 0 - 0 + 16MgO; Dosis: 3.2 grs/l
- Lisina; Dosis: 1gr/l

Luego de preparar el agua y las mezclas de fertilizantes se procedió a la colocación de las plantas en las mesas de trabajo. Las mesas de trabajo consistieron en mallas de cercas tensas aferradas a bases de madera clavadas en el suelo, con un ancho de 1.20 m de ancho por 1 m de altura. Una vez preparadas las mesas de trabajo se colocaron las plantas en su respectivo orden.

7.6 Inducción floral

Este proceso consistió la aplicación de etileno, a las plantas para inducir la floración y uniformizar su crecimiento. Se aplicó a una dosis de 3 ml por bomba de 16 l. Antes de aplicar el etileno, la planta permaneció, previamente, 24 horas sin riego. Después de la aplicación la planta permaneció 48 horas sin riego. Consecutivamente, se aplicó riego, tres veces por semana, a todos los tratamientos.

7.7 Aplicación de BAP

Catorce días después de la inducción floral se empezó el tratamiento para estimular el crecimiento de los meristemos con aplicaciones de tres dosis de 6-bencilaminopurina (BAP). En el cuadro 1 se presentan las dosis evaluadas:

Cuadro 1 Dosis de 6-Bencilaminopurina en tillandsias para evaluar la estimulación y crecimiento de los meristemos.

Tratamiento	Dosis BAP (mg/l)
1	0 (testigo)
2	5
3	10
4	15

Los tratamientos se aplicaron tres veces por semana, a las nueve de la mañana, durante seis semanas consecutivas. Al tratamiento 1 únicamente se le aplicó agua por ser el testigo.

La fertilización se hizo tres veces por semana al mismo tiempo que se hizo la aplicación del riego. Cada 22 días desde la implementación del experimento se hicieron aplicaciones de Azoxistrobina y Methil-Parathion para un debido control de prevención.

7.8 Materiales e insumos utilizados

- Mesas de trabajo
- Recipiente de preparación de mezclas
- Cubetas
- Azoxistrobina
- Methil-Parathion
- Bomba de Mochila
- Luxómetro
- Balanza analítica
- Pipetas
- Beackers
- Probetas
- Frascos ámbar
- 6-Bencilaminopurina
- Ácido Fosfórico (H_3PO_4)
- Fertilizante foliar
- Aminoácidos foliares
- Regulador de pH
- Agua
- Etiquetas identificadoras

7.9 Niveles de 6-Bencilaminopurina utilizados

Se utilizó 6-Bencilaminopurina en los siguientes niveles: 5, 10 y 15 miligramos por litro.

7.9.1 Tratamientos

Los tratamientos evaluados fueron establecidos por 3 dosis de BAP y el testigo, y se realizaron 5 repeticiones por tratamiento, con 20 unidades experimentales, lo cual suman 100 plantas en total. Cada variedad se trabajó en un experimento por separado. Se tomaron los datos a partir de los 90 días, después de la colocación en las mesas.

7.10 Diseño Experimental

Para evaluar las repuestas de la 6-Bencilaminopurina se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con 4 tratamientos y 5 repeticiones debido a que cada variedad se evaluó en forma independiente de las demás.

7.10.1 Unidades experimentales

Cada unidad experimental estuvo constituida por 5 tillandsias con características uniformes, en cuanto a edad, peso y número de hojas.

7.10.2 Modelo estadístico

$$Y_{ij} = U + t_i + E_{ij}$$

$$i = 1, 2, 3, \dots, t$$

$$j = 1, 2, 3, \dots, r$$

Donde:

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

U = Efecto de la media general de la población.

t_i = Efecto del i-ésima concentración de BAP.

E_{ij} = Error experimental asociado a la ij-ésima unidad experimental.

7.11 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza correspondiente a un diseño completamente al azar para las siguientes variables: número de brotes y longitud de los mismos. Se hizo un análisis gráfico de los promedios del número de brotes y longitud de éstos. Se utilizó una prueba de medias con comprador Duncan que se utilizó para determinar los mejores tratamientos.

7.12 Variables respuesta

Número de brotes: Para determinar el efecto de los diferentes niveles de la hormona reguladora 6-bencilaminopurina en los meristemos, se registró el número de brotes inducidos a partir de las cuatro semanas después de la colocación de las plantas en las mesas de trabajo, continuando la toma de datos hasta las 28 semanas.

Longitud del brote: Para conocer los cambios en el crecimiento de los brotes se registró la longitud de los mismos, ésta se tomó de la base a la punta de la última hoja saliente en cada brote reportándose en cm. La variable se registró por medio de una regla medida en centímetros.

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Esta investigación se realizó en dos fases: la primera consistió en una etapa de estímulo floral para la posterior decapitación y de esta manera estimular a la planta a emitir brotes laterales, y una segunda fase que se refiere a la etapa de inducción al crecimiento de las yemas laterales, donde se evaluó el efecto de la 6-bencilaminopurina, en las tres variedades de tillandsias, siendo estas: *Tillandsia pruinosa*, *Tillandsia magnusiana*, y *Tillandsia streptophylla*.

8.1 Inducción floral

Para la inducción a la floración se utilizó etileno. Esto fue utilizado para que las tillandsias se prepararan biológicamente, para producir hijuelos, por medio de su proceso biológico normal, que es que después de producir la espiga floral, la planta estimula las yemas laterales para el crecimiento de hijuelos, por lo que si se desea que la planta esté en condiciones de emitir brotes laterales antes de su ciclo normal, se debe de utilizar etileno.

Se aplicó el etileno durante 3 días, en los cuales no se aplicó riego. Esto con la finalidad de que la planta sufriera de leves quemaduras y así se llegara a un estado de estrés, por lo que la planta se vió obligada a emitir la espiga floral. Durante esta etapa no se aplicó fertilizante foliar, debido a que la planta estuvo pasando por una etapa de estrés y la planta no estaba en la disponibilidad de asimilarlo.

La variedad que mayor resentimiento sufrió al momento de la aplicación del etileno fue la *T. Magnusiana*. El tiempo de floración después de aplicado el etileno fue de 1 mes, presentándose una floración uniforme en todas las especies de tillandsias en evaluación. Fue entonces cuando se le quitó manualmente la espiga floral que estaba en crecimiento, con la finalidad de que la planta no desperdiciara nutrientes en floración.

Cabe mencionar que si no se lleva a cabo la decapitación, es más lento el proceso de crecimiento de los meristemos. El escoger plantas que hayan emitido la espiga floral anteriormente hace que la flor se desarrolle en los meristemos laterales causando deformaciones.

8.2 Evaluación de tratamientos, a las 28 semanas después del inicio de las aplicaciones de BAP, en tres especies de tillandsias evaluadas.

8.2.1 *Tillandsia magnusiana*

8.2.1.1 Variable número de brotes en *T. magnusiana*

En el cuadro 2 se presentan los análisis de varianza para la variable respuesta brotes emitidos por la planta. En el mismo se observa que para la variable hubo diferencias significativas.

Cuadro 2 Análisis de varianza para la variable número de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos en *T. magnusiana*.

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de Fc.	F tab. (5%)
Tratamientos	3	908.47	302.823333	16.7973892*	3.24
Error	16	288.448	18.028		
Total.	19	1196.918			

C.V. = 0.39 %

* Diferencia significativa (5%)

NS No significativo (>5%)

En el caso de la *T. magnusiana*, se considera que el mejor tratamiento fue 15 mg / lt de BAP, pues con él se consiguió un mayor número de brotes supervivientes después del corte de la planta madre, superando en 55.7 % al testigo y en 25.17% al segundo mejor tratamiento (cuadro 3).

Cuadro 3 Prueba de medias con comparador Duncan al 5% para la variable número de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos en *T. magnusiana* .

Tratamiento	Media	Literal
15 mg / l	17.2	a
10 mg / l	9.84	b
5 mg / l	1.52	c
0 mg / l	0.68	c

Los tratamientos de 5 mg/l y el testigo no presentaron diferencias estadísticamente. El promedio de 17.2 brotes por planta, indica el alto potencial que esta planta tiene para ser explotada comercialmente, o bien para reintroducirla en su hábitat. Sin embargo el alto número de brotes hace que los mismos salgan débiles y de poco tamaño, no siendo inconveniente, debido a la alta recuperación de los mismos en las mesas de cultivo.

8.2.1.2 Variable longitud de brotes para *T. magnusiana*

En el cuadro 4 se presentan los análisis de varianza para la variable respuesta longitud de brotes emitidos por la planta. En el mismo se observa que para la variable hubo diferencias significativas pues el valor de Fc. = 4.48 es mayor al 3.24 (5%) de significancia.

Cuadro 4 Análisis de varianza para la variable longitud de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos para *T. magnusiana*.

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de Fc.	F tab. (5%)
Tratamientos	3	4.662575	1.55419167	4.48022965*	3.24
Error	16	5.5504	0.3469		
Total.	19	10.212975			

C.V. = 0.39 %

* Diferencia significativa (5%)

NS No significativo (>5%)

Para la longitud de brotes el mejor tratamiento fue el de 5 mg / l, siendo el resto iguales entre sí. A pesar de que el tratamiento de 15 mg / l fue el que tuvo la media mas baja, se considera como una segunda opción pues no hay diferencias significativas entre todos los tratamientos excluyendo al de 5 mg / l En el caso de la *T. magnusiana* a partir de 2 cms se considera que una planta no dependerá de la planta madre y se dice que es apta para que siga su crecimiento en las mesas de cultivo con un adecuado plan de fertilización hasta que lleguen al punto de exportación (Cuadro 5).

Cuadro 5 Prueba de medias con comparador Duncan al 5% para la variable longitud de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos en *T. magnusiana* .

Tratamiento	Media (cms.)	Literal
5 mg / l	3.488	a
10 mg / l	2.714	b
0 mg / l	2.652	b
15 mg / l	2.136	b

Como la media del tratamiento de 15 mg / l supera los 2 cms, se le sigue considerando como una buena opción para producir hijuelos, debido a que lo que más interesaba en este estudio era aumentar la cantidad de brotes supervivientes en cada planta.

De acuerdo con la Figura 7, donde se presenta gráficamente el comportamiento de la longitud en función de la dosis de bencilaminopurina utilizada, se puede inferir que a mayor número de brotes menor altura de éstos, y que cuando la altura alcanza su punto máximo, la tasa de multiplicación es mínima.

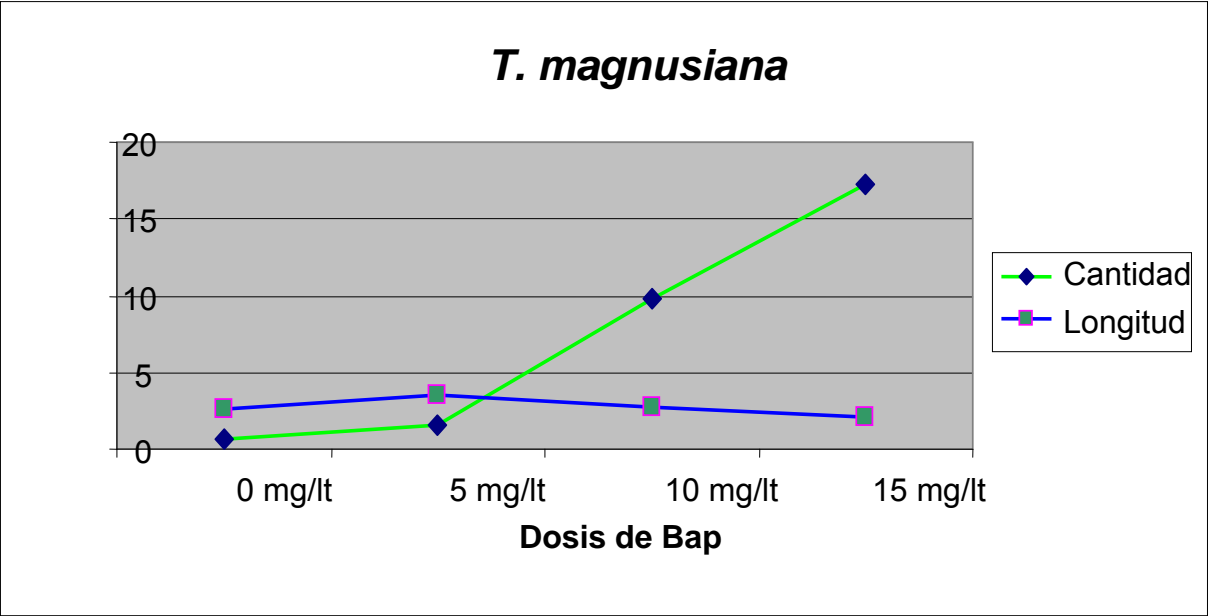


Figura 7 Gráfica comparativa de número de brotes y longitud de brotes en función de dosis de Bap en *T. magnusiana*.

8.2.2 *Tillandsia pruinosa*

8.2.2.1 Variable número de brotes en *T. pruinosa*

Como se indica en el cuadro 6, el análisis de varianza para la variable de respuesta número de brotes, presentó diferencias significativas, pues el $F_c = 94.73$ es mayor al 5% de significancia. Además la variable presentó un coeficiente de variación de 0.20 %, en el cual se establecen en un rango aceptable.

Cuadro 6 Análisis de varianza para la variable número de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos para *T. pruinosa*.

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F_c .	F tab. (5%)
Tratamientos	3	67.36	22.45333333	94.7398031	3.24
Error	16	3.792	0.237		
Total.	19	71.152			

C.V. = 0.20 %

* Diferencia significativa (5%)

NS No significativo (>5%)

En el caso de la *T. pruinosa*, se considera que el mejor tratamiento fue 15 mg / l de BAP, pues con él se consiguió un mayor número de brotes supervivientes después del corte de la planta madre, superando en 30.12 % al testigo y en 6.81 % al segundo mejor tratamiento. Los tratamientos de 5 mg/l y el testigo no presentaron diferencias estadísticamente (cuadro 7).

Cuadro 7 Prueba de medias con comparador Duncan al 5% para la variable número de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos en *T. pruinosa*.

Tratamiento	Media	Literal
15 mg / l	5.8	a
10 mg / l	4.84	b
5 mg / l	1.88	c
0 mg / l	1.56	c



Figura 8 Brote de *T. pruinosa* con dosis de 10 mg/l de bencilaminopurina

8.2.2.2 Variable longitud de brotes en *T. pruinosa*

El análisis de varianza para la variable longitud de brotes (cuadro 8), mostró diferencia significativa a un nivel del 5 %, lo cual indica que el manejo del experimento para esta variable fue adecuado.

Cuadro 8 Análisis de varianza para la variable longitud de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos.

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de Fc.	F tab. (5%)
Tratamientos	3	2.53712	0.84570667	24.4000769	3.24
Error	16	0.55456	0.03466		
Total.	19	3.09168			

C.V. = 0.19 %

* Diferencia significativa (5%)

NS No significativo (>5%)

De acuerdo con la prueba de medias con comparador Duncan al 5 % (cuadro 9), para la variable longitud de brotes, el nivel con 0 mg / l (testigo), presentó la mayor longitud de brotes. En segundo lugar le sigue la dosis de 5 mg/l. Estadísticamente los niveles de 10 y 15 mg/l son iguales entre sí.

Cuadro 9 Prueba de medias con comparador Duncan al 5% para la variable longitud de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos.

Tratamiento	Media (cms.)	Literal
0 mg / l	2.66	a
5 mg / l	2.392	b
10 mg / l	2	c
15 mg / l	1.732	c

Al igual que la *Tillandsia magnusiana*, la *Tillandsia pruinosa* logra desarrollarse en mesas de cultivo a partir de los 2 cms. El nivel de 15 mg/l de BAP a pesar que fue el que más brotes supervivientes obtuvo no alcanzó a llegar a la altura mínima para ser cultivado en las mesas de crecimiento (1.732 cm), por lo que se toma una segunda opción que sería el nivel 10 mg/l que alcanza los 2 cms. necesarios para su posterior desarrollo.

De acuerdo con la figura 9, donde se presenta gráficamente el comportamiento de la longitud en función de la dosis de bencilaminopurina utilizada, se puede relacionar la longitud de los brotes con el número de brotes emitidos por planta, para decir que a mayor número de brotes menor altura de éstos, y que cuando la planta alcanza una buena longitud, la tasa de multiplicación es baja.

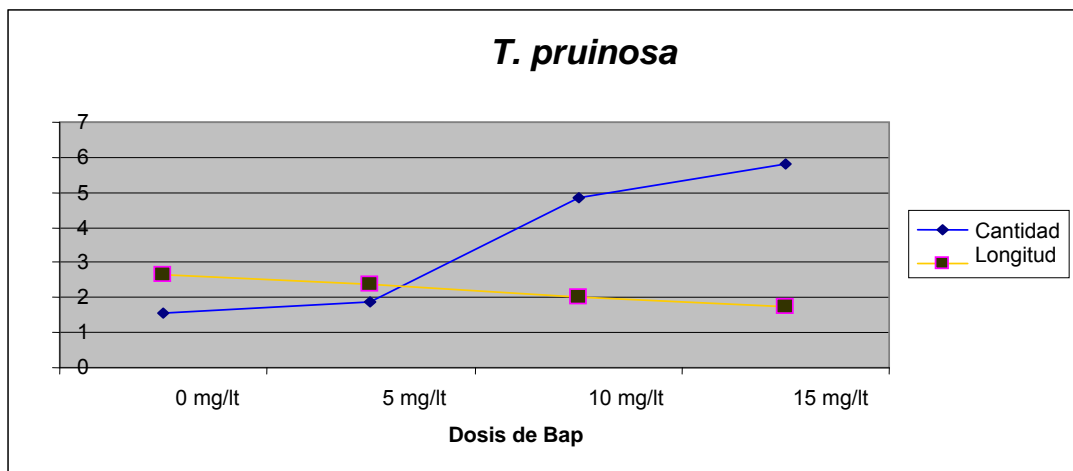


Figura 9 Gráfica comparativa de número de brotes y longitud de brotes en función de dosis de Bap en *T. pruinosa*.

8.2.3 *Tillandsia streptophylla*

8.2.3.1 Variable número de brotes para *T. streptophylla*

Según el análisis de varianza (cuadro 10), existieron diferencias estadísticas significativas, pues la $F_c = 19.61$ fue mayor que la $F_{tab} = 3.24$ (5%), por lo que se elaboró una prueba múltiple de medias. El coeficiente de variación (0.37 %) indica que en la investigación hubo un buen manejo de los datos.

Cuadro 10 Análisis de varianza para la variable número de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos en *T. streptophylla*.

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F_c .	F tab. (5%)
Tratamientos	3	48.96	16.32	19.6153846	3.24
Error	16	13.312	0.832		
Total.	19	62.272			

C.V. = 0.37 %

* Diferencia significativa (5%)

NS No significativo (>5%)

Según la prueba de medias con comparador Duncan (cuadro 11) muestra que en el caso de la *T. streptophylla*, se considera que el mejor tratamiento fue 15 mg / l de BAP, pues con el se consiguió un mayor número de brotes supervivientes después del corte de la planta madre, superando en 30.68 % al testigo y en 11.93 % al segundo mejor tratamiento. El resto de los tratamientos (10, 5 y testigo) no presentaron diferencias estadísticamente superior a la de 15 mg/l.

Cuadro 11 Prueba de medias con comparador Duncan al 5% para la variable número de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos en *T. streptophylla*.

Tratamiento	Media	Literal
15 mg / l.	5.68	a
10 mg / l.	4	b
5 mg / l.	3.04	b
0 mg / l.	1.36	c



Figura 10 Brote de *T. streptophylla* con dosis de 15 mg/l de bencilaminopurina

8.2.3.2 Variable longitud de brotes para *T. streptophylla*.

En el cuadro 12 se presentan los análisis de varianza para la variable respuesta longitud de brotes emitidos por la planta. En el mismo se observa que para la variable hubo diferencias significativas, pues el $F_c = 70.86$ es mayor que el $F_{tab} = 3.24$ (5%). El coeficiente de variación es del 0.05 %, el cual indica que el manejo de la variable fue adecuado.

Cuadro 12 Análisis de varianza para la variable longitud de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos en *T. streptophylla*.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.	F tab. (5%)
Tratamientos	3	12.964	4.32133333	70.8647644	3.24
Error	16	0.97568	0.06098		
Total.	19	13.93968			

C.V. = 0.05 %

* Diferencia significativa (5%)

NS No significativo (>5%)

En el cuadro 13, se puede ver que según la prueba de medias con comparador Duncan, al 5% para la variable longitud de brotes, todos los tratamientos tienen son diferentes estadísticamente entre sí. El mejor tratamiento fue el testigo (0 mg/l), siguiendo el de 5 mg/l, quedando en último

lugar el de 15 mg/l. A pesar que el tratamiento 15 mg/l fue el que obtuvo la media más baja sobrepasa los 3 centímetros que requiere la *T. streptophylla* para continuar el crecimiento en las mesas de trabajo hasta alcanzar el tamaño adecuado para la exportación, por lo que se considera como una opción viable para producir hijuelos de *T. streptophylla*.

Cuadro 13 Prueba de medias con comparador Duncan al 5% para la variable longitud de brotes, hasta las 28 semanas después del inicio de la toma de datos en *T. streptophylla*

Tratamiento	Media (cms.)	Literal
0 mg / l	5.772	a
5 mg / l	5.304	b
10 mg / l	4.64	c
15 mg / l	3.628	d

De acuerdo con la figura 11, donde se presenta gráficamente el comportamiento de la longitud en función de la dosis de bencilaminopurina utilizada, se puede deducir que a mayor número de brotes menor altura de éstos, y que cuando la altura alcanza su punto máximo, la tasa de multiplicación es mínima.

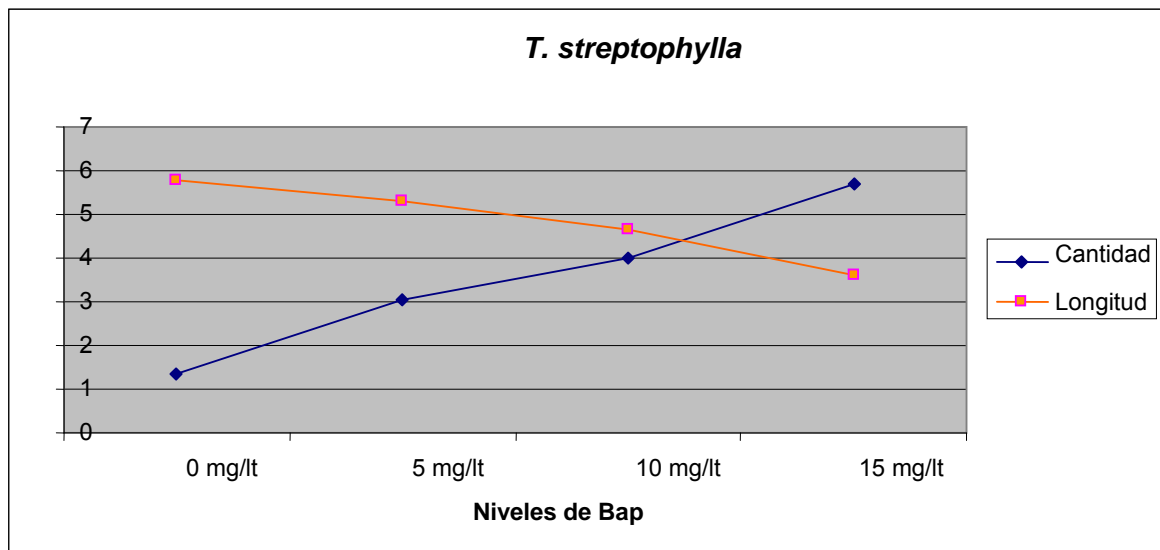


Figura 11 Gráfica comparativa de número de brotes y longitud de brotes en función de dosis de Bap en *T. streptophylla*.

8.3 Análisis de costos promedio de la producción de tillandsias a nivel comercial.

Se estableció un periodo de ejecución de costos de cinco años, pues este periodo permitirá poder determinar los indicadores financieros como: rentabilidad, relación beneficio-costos, tasa interna de retorno TIR, y valor actual neto VAN.

8.3.1 Costos de producción

A continuación en el cuadro 14 se presentan los costos iniciales de producción de tillandsias en un área de trabajo de 875 m².

Cuadro 14 Costos requeridos para empezar a producir tillandsias.

Material	Unidad	Cantidad	Precio (Q)	Precio
			Unitario	Total (Q)
COSTOS VARIABLES				
Bencilaminopurina	Gramo	19.5	Q 1,500.00	Q 29,250.00
Pita (rollo pequeño)	Libra	3	Q 3.67	Q 11.01
Frascos ambar	Unidad	5	Q 4.50	Q 22.50
Planta madre reproductora	Unidad	8000	Q 1.15	Q 9,200.00
Azoxistrobina	Libra	1	Q 700.00	Q 700.00
Insecticida	Litro	1	Q 250.00	Q 250.00
Mano de Obra	Hora	600	Q 5.25	Q 3,150.00
Caja embalaje	Unidad	40	Q 0.50	Q 20.00
Etileno	Litro	1	Q 149.30	Q 149.30
Aminoácidos	Litro	1	Q 65.00	Q 65.00
Fertilizante foliar	Litro	1	Q 45.00	Q 45.00
Acido fosfórico	Galón	1	Q 111.65	Q 111.65
Electricidad				Q 75.00
Costo de agua	Galón	150	Q 0.50	Q 75.00
Transporte	Unidad	1	Q 400.00	Q 400.00
Imprevistos 5%				Q 2,561.50
TOTAL DE COSTOS VARIABLES				Q 46,085.96
COSTOS FIJOS				
Alquiler de terreno	Manzana	0.125	Q 1,000.00	Q 125.00
TOTAL DE COSTOS FIJOS				Q 125.00

TOTAL				Q 46,210.96
--------------	--	--	--	--------------------

8.3.2 Inversiones a realizar

La inversión necesaria para iniciar la producción de tillandsias es Q 7,580.54 (cuadro 15) para un área de trabajo de 875 m²..

Cuadro 15 Inversión requerida para empezar a producir tillandsias.

CONCEPTO	UNIDAD	CANTIDAD	PRECIO (Q)	
			UNITARIO	TOTAL
Reglas de madera 1 m * 0.2 m * 0.10 m	Unidad	82	Q 4.00	Q 328.00
Rollo malla para cerco	Metro	21	Q 13.30	Q 279.30
Grapa aislante	Caja	10	Q 6.50	Q 65.00
Clavo 3 pulgadas	Lb.	3	Q 5.00	Q 15.00
Bomba de mochila	Unidad	1	Q 300.00	Q 300.00
Beackers 500 ml	Unidad	2	Q 150.00	Q 300.00
Reglas de madera 2.5 m * 0.2 m * 0.10 m	Unidad	21	Q 15.00	Q 315.00
Sarán	Metro	22	Q 15.00	Q 330.00
Probeta	Unidad	1	Q 150.00	Q 150.00
Tonel 16 Galones	Unidad	2	Q 30.00	Q 60.00
Tijeras de podar	Unidad	1	Q 65.00	Q 65.00
Mesas extras para reproducción	Unidad	4	Q 1,343.31	Q 5,373.24
TOTAL DE LA INVERSIÓN				Q 7,580.54

8.3.3 Capital de trabajo

El capital de trabajo requerido para un área de trabajo de 875 m² (cuadro16) permitirá iniciar con el funcionamiento de la reproducción de tillandsias, y servirá para cubrir costos como: materia prima, pago de mano de obra directa, además para contar con la cantidad de dinero necesaria para sufragar los gastos diarios de la producción.

Cuadro 16 Capital de trabajo.

Capital de trabajo	Q	46,210.96
Inversión	Q	7,580.54
Total	Q	53,791.50

8.3.4 Flujo neto de efectivo

A continuación en el cuadro 17 se presenta el flujo neto efectivo en la producción de tillandsias en un área de trabajo de 875 m².

Cuadro 17 Flujo neto de efectivo

	AÑO 0	AÑO 1	AÑO 2	AÑO 3	AÑO 4	AÑO 5
Ingresos		75,000 Q	79,500 Q	84,270 Q	89,326 Q	94,686 Q
Costos		46,211 Q	48,522 Q	50,948 Q	53,495 Q	56,170 Q
UTILIDAD ANTES IMPUESTOS		28,789 Q	30,978 Q	33,322 Q	35,831 Q	38,516 Q
Impuesto (5 %)		1,439 Q	1,549 Q	1,666 Q	1,792 Q	1,926 Q
Utilidad neta		27,350 Q	29,430 Q	31,656 Q	34,040 Q	36,590 Q
Depreciación		286 Q	286 Q	286 Q	286 Q	286 Q
Inversión + capital de trabajo	53,792 Q					
Flujo de efectivo		27,635 Q	29,715 Q	31,942 Q	34,325 Q	36,876 Q

8.3.5 Tasa de descuento o costo de capital

La tasa de corte para este proyecto es del 28.02%, este dato se obtuvo de tomar en cuenta el riesgo del país, de la industria y el riesgo del producto.

$$\text{Prima por riesgo (14\%)} + \text{inflación (7.47\%)} + \text{tasa pasiva (7\%)} = 28.47 \%$$

Para el cálculo de la tasa de corte se necesitaron datos actualizados del país por tal razón fue conveniente obtenerlos del Banco de Guatemala y estos son vigentes para el año del 2006. La inflación para el presente es de 7.47%.

En el caso de los impuestos se trabaja como pequeño contribuyente en la SAT (superintendencia de administración tributaria) y este es un 5 % sobre las ventas.

8.3.6 Tasa interna de retorno (TIR)

La tasa Interna de Retorno se define como aquella tasa de descuento que hace igual a cero el valor actual de un flujo de beneficios netos, entendiéndose estos, como la diferencia entre los beneficios brutos menos los costos brutos actualizados.

$$TIR = I_0 = \frac{F_1}{(1+i)^1} + \frac{F_2}{(1+i)^2} + \frac{F_3}{(1+i)^3} + \frac{F_4}{(1+i)^4} + \frac{F_5}{(1+i)^5}$$

$$TIR = \text{INVERSION} + \text{CAPITAL DE TRABAJO} =$$

Según se puede observar en el cuadro 18, los valores obtenidos de la TIR del proyecto es del 49 %, mayor a la tasa de corte.

Cuadro 18 Tasa interna de retorno

	TIR
1 años	16548.01
2 años	10654.79
3 años	6858.21
4 años	4413.14
5 años	2838.96
	41313.12

Como criterio general debe compararse la TIR del proyecto (49%) con la tasa de corte, la cual mide el mejor rendimiento. Como la TIR es 49% >28.47%, se dice que el proyecto es factible.

8.3.7 Valor actual neto (VAN)

$$VAN = I_0 - \left[\frac{F_1}{(1+K)^1} + \frac{F_2}{(1+K)^2} + \frac{F_3}{(1+K)^3} + \frac{F_4}{(1+K)^4} + \frac{F_5}{(1+K)^5} \right]$$

Según se puede observar en el cuadro 19, el valor actual neto de Q 24653.13, se define como el valor actualizado de los ingresos, menos el valor actualizado de los costos, descontados a la tasa de descuento convenida (28.47%); la inversión es rentable porque el valor actualizado del flujo de beneficios es mayor que el flujo actualizado de los costos.

Cuadro 19 Valor actual neto

	VAN
1 años	21586.60
2 años	18131.02
3 años	15223.94
4 años	12779.17
5 años	10723.90
	78444.63
VAN	24,653.13

El valor actual neto es de Q24653.13. Esta cantidad es mayor a 0.

8.3.8 Relación beneficio-costo

$$\text{Rel. B/C: } \{(\sum \text{ingresos})/(1+0.2847)\} / \{(\sum \text{costos})/(1+0.2847)\}$$

$$\text{Rel. B/C: } = 1.66$$

La relación beneficio-costo, es la relación que permitió evaluar la eficiencia de la utilización de los recursos del proyecto, se obtuvo al dividir la sumatoria de los ingresos y la sumatoria de los costos que se espera que se generen con el proyecto. El resultado indica la utilidad o el rendimiento que se obtendrá por cada unidad monetaria que se invierta en la producción. Para la producción de tillandsias la relación beneficio-costo es de (0.66) mayor que 1, esto significa que su Valor presente es positivo.

9. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en las que se llevo a cabo el experimento se puede concluir lo siguiente:

1. El nivel de 15 mg/l de BAP, presentó el promedio más alto de brotes listos para la comercialización en las tres variedades de tillandsias evaluadas (*T. pruinosa*, *T. magnusiana*, *T. streptophylla*), comparado con el nivel 0.00 mg/l. El número de brotes promedio fue de 17.2 brotes para *T. magnusiana*, 5.8 brotes para *T. pruinosa* y de 5.68 para *T. streptophylla*.
2. Los niveles que mejor alcanzan la mejor longitud en la tillandsias en evaluación son: *T. magnusiana* 5mg/l, para *T. pruinosa* el testigo (0mg/l) y para *T. streptophylla* el testigo (0 mg/l).
3. La longitud de los brotes es determinante para que las plantas se puedan desarrollar en las mesas de crecimiento. Media vez lleguen a una longitud mínima las tillandsias pueden continuar su crecimiento normal. El comportamiento de las plantas fue que a mayor número de brotes era menor la longitud de los mismos y viceversa. Por lo anterior se tomo como mejor tratamiento la media de longitud que mejor se ajustara a la mayor producción de brotes supervivientes y se aceptaron las siguientes dosis: *T. Magnusiana* (15 mg/l), *T pruinosa* (10mg/l) y *T. streptophylla* (15 mg/l), como las mejores para su reproducción.
4. El análisis de costos y ganancias promedio se resume en la siguiente tabla:

	AÑO 0	AÑO 1	AÑO 2	AÑO 3	AÑO 4	AÑO 5
INGRESO		75,000 Q	79,500 Q	84,270 Q	89,326 Q	94,686 Q
COSTO		46,211 Q	48,522 Q	50,948 Q	53,495 Q	56,170 Q
UTILIDAD NETA		27,350 Q	30,978 Q	33,322 Q	35,831 Q	38,516 Q
RENTABILIDAD		59.18%	63.84%	65.41%	66.98%	68.57%
FLUJO DE EFECTIVO		27,635 Q	29,715 Q	31,942 Q	34,325 Q	36,876 Q
RELACION B/C	1.66					
TIR	49%					
VAN	24653.13					

10. RECOMENDACIONES

Con base en los resultados obtenidos y la experiencia adquirida se recomienda lo siguiente:

1. Realizar investigaciones con dosis de fertilizantes en las tillandsias evaluadas para probar una mejora en las longitudes de brotes, tanto en mesas de crecimiento, como en madres reproductoras.
2. Aumentar el tiempo de espera de la planta madre reproductora en la fase de inducción floral para que se establezca fisiológicamente.
3. Efectuar pruebas con agua de coco (*Cocos nucifera*) como sustituto de la bencilaminopurina como medio de reducción de costos.
4. Desarrollar investigaciones sobre el tiempo que los brotes sobrevivientes pasan en las mesas reproductoras, y la forma en que se puede acelerar la etapa de venta.

11. BIBLIOGRAFIA

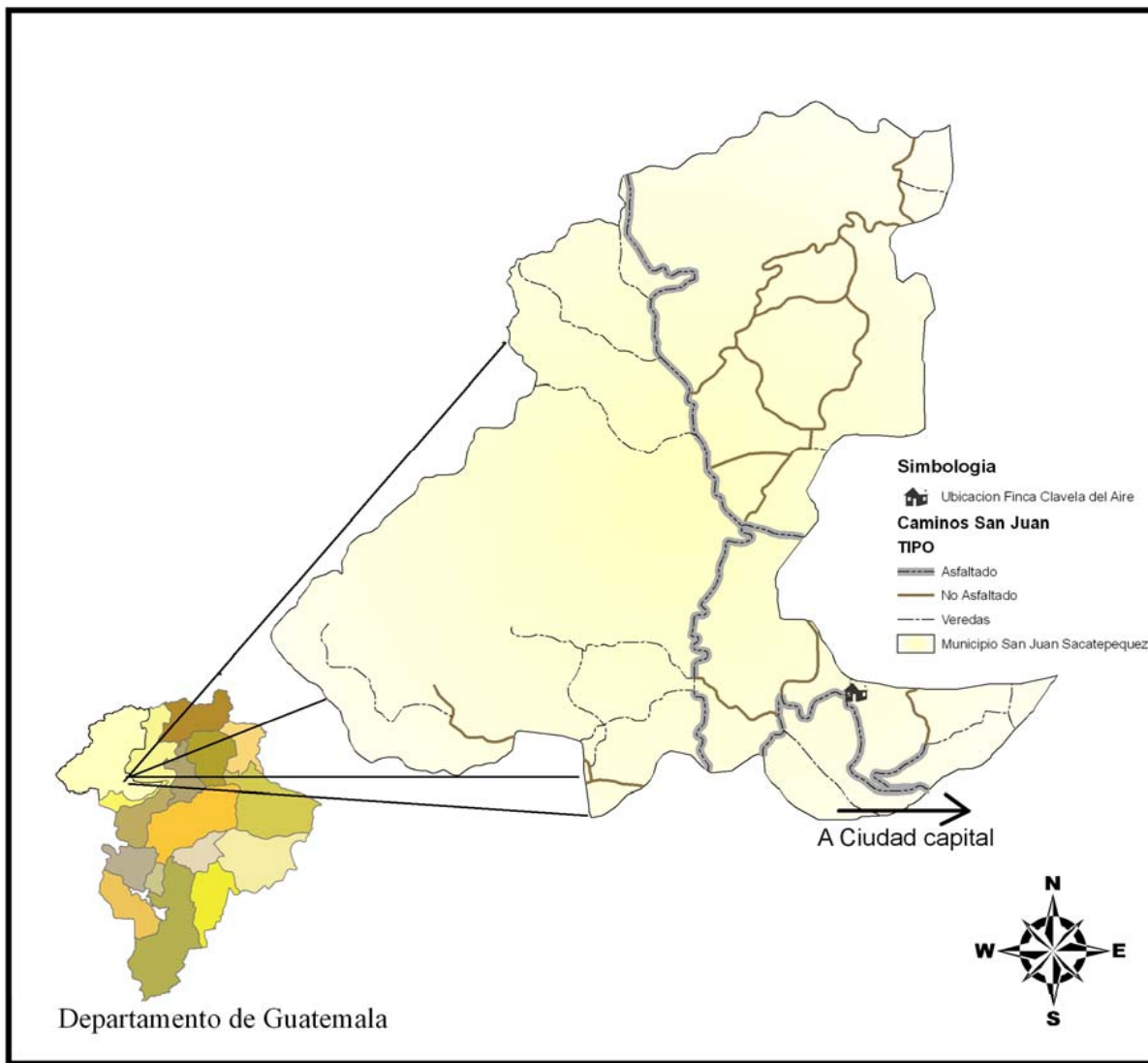
1. AGEXPORT (Asociación Gremial de Exportadores de Productos no Tradicionales, GT). 2006. Portal de exportadores de Guatemala: index de exportaciones de plantas vivas y follajes ornamentales. Guatemala. Consultado 2 jun 2006. Disponible en www.export.com.gt
2. BANGUAT (Banco de Guatemala, GT). 2005. Estadísticas de exportación por rubro: 1994-2002. Guatemala. Consultado 12 abr 2005. Disponible en: <http://www.banguat.gob.gt/estaeco/>
3. Barceló Coll, J; Nicolás Rodrigo, G; Sabater García, B. 1995. Fisiología vegetal. 7 ed. España, Pirámide. p. 390-403.
4. Betancur, J; Jaramillo, MA. 1998. Distribución de la familia Bromeliáceas en dos vertientes andinas del sur de Colombia. *Selbyana* 19(1):52-65.
5. Biondi, S; Thorpe, TA. 1981. Requirements for a tissue culture facility. *In* Symposium of method and application plant tissue culture in agriculture (1981, Campinas, Sao Paulo, Brazil). Proceedings. TA Thorpe ed. New York, US, Academic Press. p. 1-20.
6. Botanical Garden, US. 1994. The Natural History Museum London. *Flora Mesoamericana* 6. p. 124
7. Brown, GK; Luther, HE; Kress, WJ. 1993. Comments on the responsibilities of taxonomists. *J. Bromeliad Soc.* 43(4):154-156.
8. Bull, AT; Hol T, G; Lilly, MD. 1982. *Biotechnology: international trends end perspectives*. Paris, OECD. 137 p.
9. Bye, R. 1985. Medicinal plants of the Tarahumara indians of Chihuahua, Mexico. *In* Tyson, RA; Elerick, DV (eds). 1985. *Two mummies from Chihuahua: a multidisciplinary study*. San Diego Mus. Papers no. 19:77-104.
10. Chaleff, RS. 1983. Isolation of agronomical useful mutant from plant cell cultures. *Science* 219(4585):676-682.
11. Chukwujekwu, JC; Van Staden, J. 2002. Tissue culture enhances the propagation potential of some Tillandsioideae. *South African Journal of Botany* 69:217–219. Consultado 12 mayo 2005. Disponible en www.nisc.co.za
12. CONAP (Secretaria Ejecutiva del Consejo Nacional de Áreas Protegidas, GT). 2001. Resolución no. 4/2001, 1 de marzo de 2001. Guatemala. p. 2
13. Eisenga, G; Kasperbauer, MJ. 1984. Chromosomes pairing in tall fescue haploid derived by anther-panicle culture. *The Journal of Heredity* 75(6):99-102.
14. Espejo, A; López, A; Ramírez, I. 2005. *Flora de Veracruz*. Xalapa, Veracruz, México, Instituto de Ecología. 56 p.

15. Evans, DA; Sharp, WR; Ammirato, PV; Yammada, Y. 1985. Handbook of plant cell culture; techniques for propagation and breeding. New York, US, McMillan. v. 1, p. 11.
16. Facultad de Agronomía, 2002. Universidad de San Carlos de Guatemala, Manual de fisiología vegetal. p.24
17. FAO, IT. 2007. Multilingual glossary of biotechnology for food and agriculture. Rome, Italy. p. 54
18. Feldhoff, UMH. 2006. Generalidades del género *Tillandsia* (entrevista). Guatemala, Finca Clavela del Aire Propiedad.
19. Flores, DM; Besthoul T, M. 1989. Establecimiento del cultivo *in vitro* de ápices de café. *In* Simposio de caficultura (12, 1989, Guatemala). Memoria. Guatemala. p. 40-49.
20. García, N; Betancur, J. 2002. Dos especies nuevas de *Tillandsia* (Bromeliaceae) de la cordillera oriental de Colombia. *Caldasia* 24(1):1-7.
21. George, EF. 1993. Plant propagation by tissue culture; part 1: the technology. 2 ed. US, Exegetics. 574 p.
22. González, EM. 1984. Las plantas medicinales de Durango: inventario básico. México, Chapingo, Cuadernos de Investigación Tecnológica 1(2):115 p.
23. Grant, JR. 1993. True tillandsias misplaced in *Vriesea* (Bromeliaceae: Tillandsioideae). *Phytologia* 75(2):170-175.
24. Holst, BK. 1994. Checklist of Venezuelan bromeliaceae with notes on species distribution by state and levels of endemism. *Selbyana* 15:132-149.
25. Huertas, GM; Dix, M; Toledo, E; Bauer, L. 1995. Manual de identificación de 22 especies guatemaltecas del género *Tillandsia* de potencial uso sustentable. Guatemala, Universidad del Valle de Guatemala, Centro de Estudios Ambientales / Fideicomiso para la Conservación en Guatemala. 70 p.
26. IGN (Instituto Geográfico Nacional, GT) 1972. Atlas nacional de Guatemala. Guatemala. p. 52
27. Kuan, C; Ospina, IC. 1990. Introducción a la técnica de cultivo de tejidos. Costa Rica, Instituto Nacional de Aprendizaje. p. 45.
28. 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. ISHS Acta Horticulturae 289. Consultado 17 mayo 2005. Disponible en http://www.actahort.org/books/289/289_24.htm
29. Luther, HE; Sieff, E. 1994. De rebus bromeliacearum I. *Selbyana* 15(1):9-93.

30. _____. 1997. De rebus bromeliacearum II. Selbyana 18(1):103-148.
31. Merck Index, US. 1996. Encyclopedia of chemicals and biological. NJ, US, Susan, Whitehouse Station. 470 p.
32. Murashige, T; Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
33. Murashige, T; Skoog, G; Morton, JF. 1962. A revised medium form rapide growth and biossays with tobacco tissue culture. *Physiology Plantarum (Alemania)* 15:473-497.
34. Pocasangre, L. 1993. Manual de micropropagación de plátano banano. San Pedro Sula, Honduras, Fondo Hondureño de Investigación Agrícola. 53 p.
35. Sandoval, JA. 1991. Micropropagación de plátano y banano (*Musa* AAB.AAA) en el CATIE. Costa Rica, CATIE. 156 p.
36. Smith, LB; Downs, RJ. 1977. Tillandsioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica* 14(2):663-1492.
37. Thornthwaite, 2001. Mapa climatológico preliminar de la Republica de Guatemala. Instituto Geogràfico Nacional "Ricardo Obiols" Mapa No. 12
38. Usui, K; Okabe, K. 1996. Principios básicos del cultivo de tejidos vegetales. Guatemala, ICTA / JOCV. 166 p.

12. ANEXO

LOCALIZACION FINCA CLAVELA DEL AIRE S.A.



Universidad
San Carlos de Guatemala

Finca Clavela del Aire S.A.



Condiciones:

ALTURA: 1,900 m.s.n.m.
T° PROMEDIO: 18 C°
LATITUD: 14° 42' 30''
LONGITUD: 90° 37' 13''
ZONA DE VIDA: Bosque húmedo montano bajo subtropical

Edición: Ing. Erick Calderón
Coordenadas Geograficas
Datum: WGS_84
Escala: 1: 176.201