

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y  
ARTES DE CHIAPAS**

**INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**TESIS**

**Germinación de semillas de piñita de  
monte (*Bromelia karatas* L.), especie de  
importancia medicinal**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

PRESENTA

**LUIS ENRIQUE LÓPEZ HERNÁNDEZ**



Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

Marzo 2022

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y  
ARTES DE CHIAPAS**

**INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**TESIS**

**Germinación de semillas de piñita de  
monte (*Bromelia karatas* L.), especie  
de importancia medicinal**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

PRESENTA

**LUIS ENRIQUE LÓPEZ HERNÁNDEZ**

DIRECTORA

**DRA. CAROLINA ORANTES GARCÍA**

Banco de Germoplasma Vegetal

Instituto de Ciencias Biológicas-UNICACH

ASESORAS

Dra. Alma Gabriela Verdugo Valdez

Instituto de Ciencias Biológicas-UNICACH

M en C. Dulce María Pozo Gómez

Doctorado en Ciencias en Biodiversidad y Ecosistemas

Tropicales ICBIol-UNICACH





**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS**  
**SECRETARÍA GENERAL**  
**DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES**  
**DEPARTAMENTO DE CERTIFICACIÓN ESCOLAR**  
**AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN**

Lugar: Tuxtla Gutiérrez, Chiapas  
Fecha: 16 de marzo de 2022

C. Luis Enrique López Hernández

Pasante del Programa Educativo de: Licenciatura en Biología

Realizado el análisis y revisión correspondiente a su trabajo recepcional denominado:

Germinación de semillas de piñita de monte (*Bromelia karatas* L.), especie de

Importancia medicinal.

En la modalidad de: Tesis Profesional

Nos permitimos hacer de su conocimiento que esta Comisión Revisora considera que dicho documento reúne los requisitos y méritos necesarios para que proceda a la impresión correspondiente, y de esta manera se encuentre en condiciones de proceder con el trámite que le permita sustentar su Examen Profesional.

ATENTAMENTE

**Revisores**

Dr. Óscar Farrera Sarmiento

M. en C. Ana Guadalupe Rocha Loredó

Dra. Alma Gabriela Verdugo Valdez

**Firmas:**

[Firma]  
[Firma]  
[Firma]

Ccp. Expediente



## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a mi directora de tesis la **Dra. Carolina Orantes García**, por todo su apoyo, la paciencia, los consejos, el tiempo que me dedico para poder concluir con este trabajo, y por darme las facilidades para llevar a cabo este trabajo dentro de las instalaciones del Banco de Germoplasma Vegetal-UNICACH.

A la Mtra. Dulce María Pozo Gómez por ser una gran persona y formar parte de esta investigación como asesora, por su apoyo y los consejos en el proceso de realización, por brindarme su amistad

A la Dra. Alma Gabriela Verdugo Valdez por formar parte de esta investigación como asesora, por su apoyo en el proceso de realización y revisión de la misma.

Al hno. Oliver quien me abrió las puertas de su casa y terreno para la obtención de los frutos para que esta investigación se pudiera llevar a cabo, por su amistad, sus consejos y las palabras de ánimo.

Al Instituto de Ciencias Biológicas por la formación recibida.

## DEDICATORIA

A **Dios** gracias por darme la vida, el entendimiento y por permitirme llegar hasta aquí y alcanzar un sueño y una meta más en mi vida.

A mis padres, Marco Antonio López García y Araceli Hernández Zarate, por confiar en mí, por su apoyo para poder alcanzar esta meta la cual no es solo mía, sino, también de ellos, por darme su amor en cada momento y nunca dejarme solo a pesar de las dificultades que se presentaran, gracias por estar siempre a mi lado, por lucha junto conmigo porque mis logros también son suyos.

A mi hermano Marco Antonio López Hernández por su amistad y por su apoyo en todo momento.

A mis compañeros, Dergi, Francisco, Eric, Brindis, quienes me apoyaron y estuvieron conmigo durante toda la carrera, por los buenos momentos que vivimos.  
TEAM CAPI.

# Índice General

Índice de figuras-----	i
Índice de Cuadros-----	iii
Resumen-----	iv
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II. MARCO TEÓRICO</b> .....	3
2.1 Descripción de la familia <i>Bromeliaceae</i> .....	3
2.2 Descripción del género <i>Bromelia</i> .....	3
2.3 Características de la especie <i>Bromelia karatas</i> L. ....	4
2.3.1. Taxonomía .....	7
2.3.2 Sinónimos de acuerdo a Trópicos (2017) .....	8
2.3.3 Nombres vernáculos y étnicos de <i>Bromelia karatas</i> .....	8
2.3.4 Distribución .....	9
2.3.5 Ecología .....	9
2.3.6 Usos e importancia .....	10
2.3.7 Estado de conservación .....	10
2.4 Fisiología reproductiva .....	10
2.4.1 Semilla .....	11
2.4.2 Características generales de semillas.....	12
2.4.3 Morfometría.....	14
2.4.4 Viabilidad de semillas.....	15
<b>a) Pruebas de viabilidad</b> .....	15
2.4.5 Humedad .....	18
<b>a) Pruebas de humedad</b> .....	18
2.4.6 Almacenamiento de semillas.....	19
<b>a) Tipos de almacenamiento</b> .....	20
<b>b) Factores de almacenamiento</b> .....	20
2.4.7 Germinación.....	22
<b>a) Tipos de germinación</b> .....	22
<b>b) Tratamientos pregerminativos</b> .....	24

<b>III. ANTECEDENTES .....</b>	<b>25</b>
3.1 Morfología y Fisiología .....	25
3.2 Cultivo <i>in vitro</i> .....	26
3.3 Ecología .....	27
3.4 Medicinal.....	27
3.5 Tratamientos pregerminativos.....	29
<b>IV. OBJETIVOS .....</b>	<b>32</b>
4.1 General: .....	32
4.2 Específicos:.....	32
<b>V. ZONA DE ESTUDIO .....</b>	<b>33</b>
<b>5.1 Zona de estudio.....</b>	<b>33</b>
5.1.1 Clima.....	33
5.1.2 Hidrología.....	34
5.1.3 Vegetación .....	34
5.1.5 Fauna.....	34
<b>VI. MÉTODO .....</b>	<b>35</b>
6.1 Recolecta de los frutos.....	35
6.2 Pruebas básicas de calidad de semillas .....	35
6.2.1 Morfometría de frutos y semillas de <i>Bromelia karatas</i> L. ....	35
6.2.2 Determinación de contenido de humedad de las semillas .....	36
6.2.3 Determinación de porcentaje de viabilidad de la semilla.....	36
6.2.4 Prueba de germinación .....	37
6.3 Análisis de Datos .....	39
<b>VII. RESULTADOS .....</b>	<b>40</b>
7.1 Morfometría.....	40
<b>a) frutos .....</b>	<b>40</b>
<b>B) Semillas .....</b>	<b>41</b>
7.2 Viabilidad y humedad.....	42
7.3 Pruebas de germinación .....	43
7.4 Crecimiento y desarrollo de plántulas de <i>Bromelia karatas</i> L. ....	45
<b>VIII.DISCUSIÓN.....</b>	<b>46</b>

<b>IX. CONCLUSIÓN.....</b>	<b>50</b>
<b>X. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>51</b>
<b>XI. REFERENCIAS DOCUMENTALES .....</b>	<b>52</b>

## Índice de figuras

Figura 1. <i>Bromelia karatas</i> L.: a) parte de fructificación de la planta, b) vista completa de la planta in situ.....	4
Figura 2. Hojas de <i>Bromelia karatas</i> L. 1): (A) envés y (B) haz de la hoja; 2) espinas de la planta (Espejo-Serna et al., 2005).....	5
Figura 3. Flores de <i>Bromelia karatas</i> L. (Espejo-Serna et al., 2005).....	6
Figura 4. Aspectos morfológicos de la fruta de <i>Bromelia karatas</i> L.: A. fruto con tomento (Lidueña y Martelo, 2018) B. fruto limpio de color rosa con blanco.....	7
Figura 5. Mapa de distribución general de <i>Bromelia karatas</i> L. (Zúñiga y Caldón, 2008).....	9
Figura 6. Semillas de <i>Bromelia karatas</i> L., a) características externas; b) características internas de la semilla.....	11
Figura 7. Ejemplo de las características internas de las semillas; a) frijol (dicotiledonea), b) maíz (monocotiledonea) (Espíndola, 2004). ....	13
Figura 8. Características externas e internas de las semillas, utilizando como ejemplo la semilla de nogal (Espíndola, (2004). ....	13
Figura 9. Ejemplo de las dimensiones en semilla de cereal, Feistritzter (1985).....	14
Figura 10. Diferentes patrones de tinción que puede presentar los embriones, Pita-Villamil y Pérez-García (2001).....	16
Figura 11. Procedimiento de la prueba de peróxido de hidrógeno, Poulsen (2000).....	17
Figura 12. Ejemplo de germinación hipogea, en semillas de haba (Recasens y Conesa, 2009).....	23
Figura 13. Ejemplo de germinación epigea, semilla de frijol (Recasens y Conesa, 2009).....	24

Figura 14. Mapa de villa de Acala (señalado en color rosa, dentro del círculo rojo) (Villavicencio et al., 2010).....	33
Figura 15. Planta de <i>Bromelia karatas</i> L. con frutos.....	35
Figura 16. Ejes de medición para la determinación morfológica de los frutos y semillas: (L) largo y (A) ancho. (Jaramillo, 2004). ....	36
Figura 17. a) Frutos de <i>Bromelia karatas</i> L., b) parte interna del fruto, se observa las tres divisiones donde se encuentran las semillas. ....	40
Figura 18. Morfología externa de las semillas de <i>Bromelia karatas</i> L. visto desde el microscopio estereoscopio .....	41
Figura 19. Morfología interna de las semillas de <i>Bromelia karatas</i> L., visto desde el microscopio estereoscopio .....	41
Figura 20. Patrón topológico en semillas de <i>Bromelia karatas</i> L; (A) semillas libres de coloración, (B) embrión parcialmente teñidas o levemente teñidas de rosa y (C) embrión totalmente teñidas de rojo intenso.....	42
Figura 21. Comparación del porcentaje de germinación en semillas de <i>Bromelia karatas</i> L., recién recolectadas (0 meses) y con 12 meses de almacenamiento, sometidas bajo 4 tratamientos pregerminativos. ....	43
Figura 22. Germinación acumulada en semillas de <i>Bromelia karatas</i> L. con 0 meses de almacenamiento, bajo 4 tratamientos diferentes.....	44
Figura 23. Germinación acumulada en semillas de <i>Bromelia karatas</i> L. con 12 meses de almacenamiento, bajo 4 tratamientos diferentes.....	44
Figura 24. Germinación hipogea y ejemplo de crecimiento de la semilla de <i>Bromelia karatas</i> L. en un periodo de un mes. ....	45

## Índice de cuadros

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de <i>Bromelia karatas</i> L. ....	7
Cuadro 2. Nombres vernáculos y étnicos de <i>Bromelia karatas</i> L. según Zúñiga y Caldón, (2008).....	8
Cuadro 3. Descripción de las características morfológicas de los frutos de <i>Bromelia karatas</i> L.. ....	40
Cuadro 4. Descripción de las características morfológicas de las semillas de <i>Bromelia karatas</i> L.....	42

## Resumen

*Bromelia karatas* L. es una especie de importancia ecológica, debido a que evita la erosión del suelo y actúa como hábitat único para muchas especies animales, y presenta importancia etnobotánica. Sin embargo, el aprovechamiento de esta especie se realiza de poblaciones silvestres, lo que ha provocado la disminución en sus poblaciones. Es por ello, que la presente investigación está enfocada en generar información básica sobre la morfometría, humedad, viabilidad y germinación de las semillas, proporcionando información relevante que pueda ser utilizada para implementar estrategias en programas o proyectos de conservación y aprovechamiento sustentable. Bajo un diseño experimental aleatorio, se determinó individualmente el ancho, largo y peso de 100 frutos y semillas. La viabilidad fue determinada mediante la técnica de tetrazolio, la humedad mediante un determinador de humedad y la prueba de germinación se realizó utilizando tres tratamientos pregerminativos (escarificación química, tratamiento hormonal, remojo en agua) y testigo. Se obtuvo que los frutos miden en promedio  $6.06 \pm 0.20$  cm de largo y  $3.87 \pm 0.04$  cm de ancho, el peso promedio fue  $12.67 \pm 1.33$  g. y cada fruto contiene 29 semillas en promedio. Las semillas, presentan en promedio  $4.54 \pm 0.45$  mm de largo y  $2.84 \pm 0.43$  mm de ancho, y un peso promedio de  $0.035 \pm 0.003$  g. Para las pruebas de germinación en semillas recién recolectadas, inició el proceso germinativo a partir de 84 días después de la siembra con un 16% de germinación final con peróxido de hidrógeno, en testigo iniciaron el proceso germinativo a los 72 días y logro 15% de germinación final, para los tratamientos pregerminativos de inmersión en ácido giberélico y agua no se logró germinación (0% respectivamente), mientras que las semillas con 12 meses de almacenamiento inician el proceso germinativo a los 39 días en los tratamientos con peróxido de hidrogeno e inmersión con agua y el testigo inicio a los 51 días. La germinación de las semillas de *Bromelia karatas* L., es de tipo hipogea, sus raíces son consideradas de tipo homorrhizas, presentan bajo índice de viabilidad y bajo contenido de humedad; y el peróxido de hidrogeno, es el mejor tratamiento pregerminativo, en ambos periodos de almacenamiento. **Palabras clave:** Tratamientos pregerminativos, Ácido giberélico. Tetrazolio

## I. INTRODUCCIÓN

México es reconocido por tener una alta diversidad biológica, dentro del cual se encuentran representados casi todos los tipos de vegetación del planeta, se estima que tiene el 10% de flora del mundo y se encuentra en el cuarto lugar entre los países o regiones con más de 22 000 especies de plantas vasculares (Magaña y Villaseñor, 2002).

Chiapas cuenta con una inmensa diversidad de tipos de vegetación, ocupa el segundo lugar a nivel nacional, tiene la tercera parte de la flora y el 80% de especies de árboles tropicales de todo México (Castro-Soto, 2010). Caracterizando al país como un centro de diversificación de la familia *Bromeliaceae*, estas son plantas herbáceas, terrestres, litófitas, que crecen sobre piedras o bien son epífitas que se desarrollan sobre árboles, cactus o incluso puede crecer en los cables de luz en las ciudades (Mondragón *et al.*, 2011). Esta familia consta de aproximadamente 3 172 especies repartidas en tres subfamilias: *Pitccainioideae*, *Tillandsioideae* y *Bromelioideae* y en 58 géneros, los cuales se localizan en México, Belice, Guatemala, Panamá, las Antillas y el norte de Sudamérica y una solo especie en el occidente de África (Espejo-Serna *et al.*, 2004).

De la subfamilia *Bromelioideae* se han registrado 18 géneros y 342 especies, específicamente relacionados con el género *Bromelia* (Espejo-Serna *et al.* 2004) las especies más importantes de este género son: *Bromelia alta*, *Bromelia arenaria*, *Bromelia antiacantha*, *Bromelia balansae*, *Bromelia humilis*, *Bromelia karatas*, *Bromelia pinguin*, *Bromelia scarlatina*, *Bromelia serra* y *Bromelia sylvícola* (Zúñiga y Caldón, 2008).

*Bromelia karatas* L. es una especie de importancia ecológica, tiene la capacidad de evitar la erosión del suelo y actúa como hábitat único para muchas especies animales (Albarrán-Mondragón, 2016). Se le atribuyen varios usos etnobotánicos, debido a que es utilizada para la construcción de cercos vivos, debido a es una barrera para intrusos, y que esta puede crecer incluso en suelos muy pobres (Albarrán-Mondragón, 2016), además, los frutos son comestibles puesto que

tienen la peculiaridad de ser ligeramente ácidos, agradables al gusto, estos pueden ser consumidos en diversas formas; en bebidas refrescantes fermentadas y no fermentadas, en salsas, o también consumidos en frescos directamente de la planta (Hornung-Leoni, 2011). El fruto de esta planta es utilizado en la medicina tradicional por diversas comunidades del sureste de México, debido a su actividad hipoglucémica, antiparasitaria, antioxidante (Albarrán-Mondragón, 2016).

Sin embargo, el aprovechamiento de esta especie es de forma silvestre, aunado a la introducción de nuevas especies y la habilitación de tierras para las labores agrícolas y ganaderas, adicionalmente la invasión de nuevas especies en las zonas donde crece de forma silvestre, ha provocado la disminución en sus poblaciones (Albarrán-Mondragón, 2016).

Aunado a ello, se desconoce parte de su fisiología reproductiva de *Bromelia karatas*, por lo que es imposible establecer planes sustentables de reproducción de la misma. Es por ello, que la presente investigación está enfocada en generar información básica sobre aspectos de morfometría, humedad, viabilidad y germinación de las semillas de la especie, proporcionando información básica para poder desarrollar en un futuro programas o proyectos de reproducción, restauración y manejo sustentable de la especie.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Descripción de la familia *Bromeliaceae*

La familia *Bromeliaceae* fue nombrada así en honor del botánico sueco Olaf Bromelius y fue Carl Linneo quien hizo oficial este nombre en 1763 (Mondragón *et al.*, 2011). Los miembros de este grupo son plantas herbáceas de hábito epífita, terrestre o rupícola, las principales sinapomorfias de esta familia son la presencia de escamas peltadas y el perianto diferenciado en cáliz y corola, además de tener las hojas dispuestas en formas de roseta basal, asimismo estas plantas han desarrollado varias adaptaciones para hacer frente a las condiciones ambientales adversas, como la vía de fotosíntesis CAM (metabolismos ácidos de crasuláceas, por su sigla en inglés) y la presencia de escamas peltadas, favoreciendo la obtención y conservación de los nutrientes obtenidos de las rocas y de sustratos pobres (González-Rocha *et al.*, 2016).

Las bromeliáceas pueden crecer solas o formar densas matas con varios vástagos agrupados y ser muy pequeñas (hasta 3 cm de altura) o muy grandes (de hasta 12 m de altura) las raíces y les ayuda a agarrarse en los sustratos, ocasionalmente pueden presentar estolones, los cuales sirven para la reproducción vegetativa de la planta y en algunos casos funciona para que alcancen paulatinamente los estratos superiores del bosque, lo que capacita a algunas especies para alcanzar y competir en ambientes donde otras plantas no llegarían, y los tallos son generalmente muy reducidos (Betancur y García, 2006).

### 2.2 Descripción del género *Bromelia*

Este género es representado por especies terrestres y epífitas, cuyo margen foliar es serrado, con ovarios inferiores (se halla debajo de otros verticilos sobre un receptáculo cóncavo, donde sépalos, pétalos y estambres están insertos en la parte de arriba del ovario), frutos tipos bayas y semillas desnudas (Espejo-Serna *et al.*, 2005). Las especies de *Bromelia* son plantas arbustivas con hojas en forma de roseta, erguidas, que pueden medir de 1 a 3 m de largo y de 2 a 4 cm de ancho, presentan espinas curvas de 5 a 10 mm en el borde y cambian el color de verde brillante a rojo (Espejo-Serna *et al.*, 2004). Se les describe como plantas estoloníferas

(es decir, que producen estolones o brotes laterales decumbentes o rastrero que, enraizando, dan lugar a individuos independientes de la planta madre) con filodios envainados de 1.5 cm de largo y 4 cm de ancho, con bordes muy espinosos, punta prolongada (González-Salvatierra *et al.*, 2013). Los frutos son de color amarillo o rosados con estomas marcados en la epidermis, haces vasculares de diámetro pequeño, más alto que ancho, además son carnosos y con semillas aplanadas, las especies del género *Bromelia* comparten muchas características morfológicas, sin embargo, mantienen distancias importantes entre las que destacan el color, forma y tamaño de los frutos (Espejo-Serna *et al.*, 2005).

### 2.3 Características de la especie *Bromelia karatas* L.

Es una planta terrestre, acaule (termino botánico que se les aplica a plantas que poseen un tallo corto que no supera el nivel de la tierra), de hojas arrosetadas bastante aplanadas, la cual florece, fructifica y muere dejando un hijuelo en un remplazo, se caracteriza por la presencia de tomento (conjunto de pelos que cubren la superficie de los órganos de algunas plantas) de color café en cada una de sus partes, sus raíces se caracterizan por ser delgadas y fibrosas, son pocas, y no crecen mucho, encontrándose de manera superficial, son consideradas como raíces horroricias, debido a que no tienen un centro de origen, sino que se originan de cualquier lugar de la cabezuela (Figura 1) (Montes *et al.*, 2014).

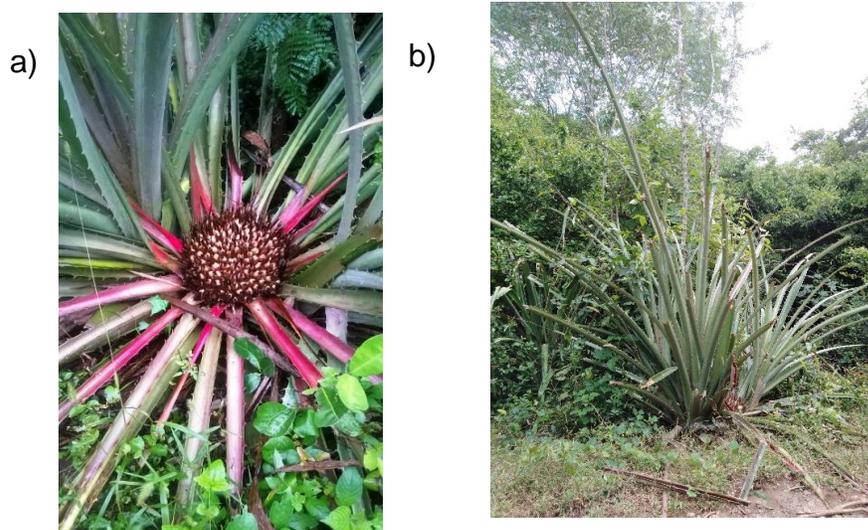


Figura 1. *Bromelia karatas* L.: a) parte de fructificación de la planta, b) vista completa de la planta *in situ*.

Sus hojas son lanceoladas y alargadas de 1.2 a 1.5 m, con un grosor de 2.8 mm, de color verde brillante en el haz y verde grisáceo por el envés, son poco cóncavas hacia el haz, los márgenes presentan numerosas espinas de color café oscuro, agudas, rectas y curvas en el ápice, de 7.9 mm de largo, separadas por 3 a 6.4 cm (Montes *et al.*, 2014). Sin embargo, otros autores afirman que las hojas de *Bromelia karatas* presentan vainas amarillas o amarillas-pajizas a pardas anchamente triangular, de 10 a 15 cm de largo, 7 a 10 cm de ancho, enteras en la porción basal, espinosas solo hacia la parte, densamente ferrugíneo lepidotas, particularmente en el haz, láminas verdes, cintiformes largamente triangulares, de 50 cm a 3 m de largo, 1.5 a 5.5 cm de ancho, blanco-lepidotas en el envés (Espejo-Serna *et al.*, 2005).



Figura 2. Hojas de *Bromelia karatas* L. 1): (A) envés y (B) haz de la hoja; 2) espinas de la planta (Espejo-Serna *et al.*, 2005).

Las flores de esta especie son rectas actinomorfas y tubiformes, sésiles o cortamente pediceladas, el pedicelo puede llegar a medir hasta 1 cm de largo, con sépalos verdes, largamente triangulares, de entre 1.5 cm hasta 3 cm de largo y entre 5 y 7 mm de ancho, connados en la base, densamente ferrugíneo-lepidotos

externamente, específicamente hacia la parte apical, redondeados en el ápice, presenta un pétalo rosado con blanco midiendo entre 4.8 y 5 cm de largo y 4 mm de ancho, los estambres son más cortos que los pelos, los filamentos connados a los pétalos en la base, las anteras blancas a amarillas lineales de 8 a 10 mm de largo y los ovarios, verdes, oblongos de 5 a 6 cm de largo, lineales de 10 mm de ancho, el estilo blanco, linear de 3-5 a 7 cm de largo (Figura 3) (Espejo-Serna *et al.*, 2005).



Figura 3. Flores de *Bromelia karatas* L. (Espejo-Serna *et al.*, 2005).

Su fruto es una baya agridulce y jugosa de cáscara color café completamente tomentoso, fusiforme, estrecho en la parte basal y apical, pero un poco más ancho en la parte central, tiene un tamaño de aproximadamente 10.3 cm de largo y 1.59 cm de ancho, presentan un pulpa de color blanco y se divide en tres lóculos, con dos series de semilla, cada fruto tiene en promedio 69 semillas, ubicadas alternamente hacia el centro (Lidueña y Martelo, 2018), pero Espejo-Serna *et al.* (2005), menciona que los frutos son de color rodados externamente y blancos internamente, elipsoide de entre 5 a 5.6 cm de largo y 1.2 a 2 cm de diámetro (Figura 4).



Figura 4. Aspectos morfológicos de la fruta de *Bromelia karatas* L.: A. fruto con tomento (Lidueña y Martelo, 2018) B. fruto limpio de color rosa con blanco.

### 2.3.1. Taxonomía

La taxonomía de *Bromelia karatas* L. fue publicada y descrita por primera vez en 1753, por el científico Carl Linnaeus, International Plant Names Index (Cuadro 1; IPNI, 2019).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de *Bromelia karatas* L.

Reino	<i>Plantae</i>
Filo	<i>Tracheophyta</i>
Clase	<i>Liliopsida</i>
Orden	<i>Poales</i>
Familia	<i>Bromeliaceae</i>
Género	<i>Bromelia</i>
Especie	<i>Bromelia karatas</i> L.

### 2.3.2 Sinónimos de acuerdo a Trópicos (2017)

Los sinónimos registrados para esta planta son los siguientes:

- *Bromelia acanga* L.
- *Bromelia acaulis* Stokes
- *Bromelia nudicaulis* var. *Caraguata* lam.
- *Bromelia plumieri* (E. Morren)
- *Karatas karatas* (L) Voss
- *Karatas plumieri* E. Morren
- *Nidularium karatas* (L) Lem ex Griseb

### 2.3.3 Nombres vernáculos y étnicos de *Bromelia karatas*

De acuerdo a las diversas culturas, las especies son nombradas por nombres comunes o vernáculos, en el cuadro 2, se muestran los nombres comunes reportados para *Bromelia karatas* L.

Cuadro 2. Nombres vernáculos y étnicos de *Bromelia karatas* L. según Zúñiga y Caldón, (2008).

México	<ul style="list-style-type: none"><li>• Jocuiste</li><li>• Timbiriche</li><li>• Piñuela</li><li>• Piñita de monte</li></ul>
Puerto Rico	<ul style="list-style-type: none"><li>• Piña de cuervo</li></ul>
El Salvador	<ul style="list-style-type: none"><li>• Piñal</li><li>• Piña de cerco</li><li>• Hijos de piña</li><li>• Piñuela</li></ul>
Venezuela	<ul style="list-style-type: none"><li>• Camburito</li><li>• Chihgüchigüe</li><li>• Curujujul</li><li>• Cuscuta</li><li>• Piñuela</li></ul>

### 2.3.4 Distribución

*Bromelia karatas* L. es una planta que se encuentra mayormente en Latinoamérica, en la zona del neotrópico, su distribución va desde las islas del caribe hasta Ecuador y Brasil, incluso en Centroamérica, también se puede encontrar de forma silvestre en la República de Panamá (Zúñiga y Caldón, 2008), particularmente en México, se puede encontrar en 12 de los 32 estados (Figura 5) (Espejo-Serna *et al.*, 2010).

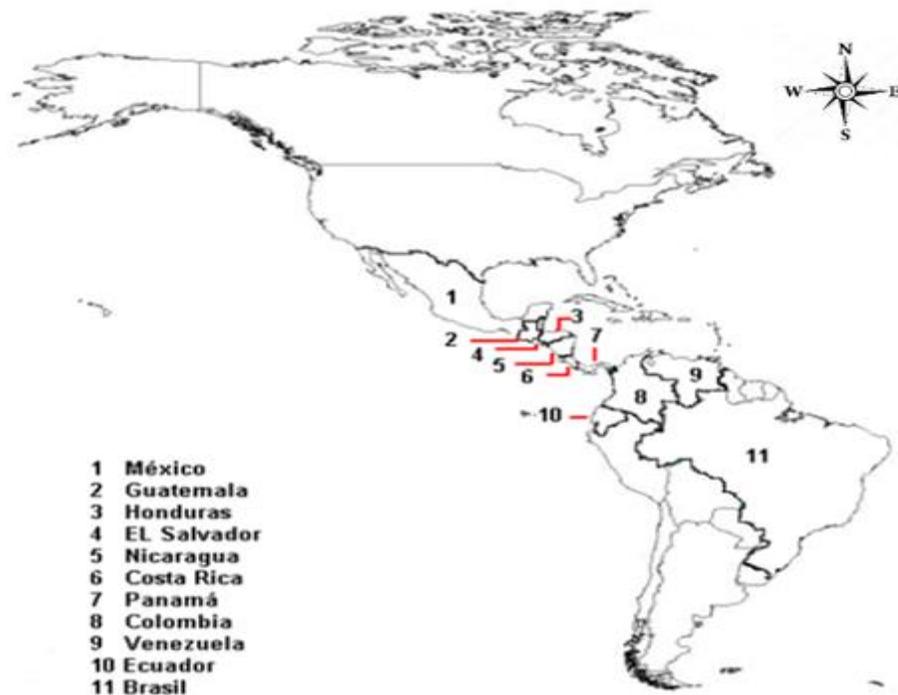


Figura 5. Mapa de distribución general de *Bromelia karatas* L. (Zúñiga y Caldón, 2008).

### 2.3.5 Ecología

La familia *Bromeliaceae*, se distribuyen en las regiones tropicales y subtropicales de América, debido al éxito de colonización que posee su taxa, están distribuidas en todos los tipos de vegetación, hablando específicamente de México, se encuentra principalmente en bosques de coníferas, bosques de *Quercus*, bosques caducifolios, bosques mesófilo de montaña y bosques tropicales perennifolios (González-Rocha *et al.* 2016). *Bromelia karatas* L. es una planta terrestre de bosque y matorrales entre 50-1500 msnm, florece en los meses de junio a julio y es propio de bosques secos,

estacionalmente secos y bosques húmedos, crecen en suelos pobres, por lo cual se puede encontrar en estado silvestre o cultivados como cercas vivas (Morales, 2003).

### **2.3.6 Usos e importancia**

Esta especie se le ha atribuido importancia ecológica ya que evita la erosión del suelo y actúa como hábitat único para muchos animales pequeños (Albarrán-Mondragón, 2016). Además, se ha reportado que *Bromelia karatas* L. tiene importancia medicinal ya que sus hojas se emplean para preparar té contra la inflamación, así como también, Albarrán-Mondragón (2016), menciona que presentan actividad antiparasitaria y antioxidante; también son implementadas como cercas vivas, ya que son puestas alrededor de las casa y terrenos para protección contra los intrusos; y comestible en donde frutos son consumidos en bebidas o comidos directamente de la planta, o como en el caso Guadalajara, Jalisco. México suelen usar los frutos para preparar salsas (Hornung-Leoni, 2011),

### **2.3.7 Estado de conservación**

De acuerdo con Global Biodiversity Information Facility (GBIF, 2019) *Bromelia karatas* L. se encuentra con un status de conservación dentro de la IUCN, como “no evaluada”. En México aún no se encuentra reportada dentro de la NOM-059-SEMARNAT-2010.

## **2.4 Fisiología reproductiva**

Las bromelias se encuentran en gran diversidad de hábitats y presentan características fisiológicas que les han permitido conquistar ambientes altamente restrictivos desde el punto de vista hídrico y natural. Una de las principales características es la presencia de metabolismos CAM, el cual es el proceso de fijación de CO<sub>2</sub> que se realiza principalmente en la noche, evitando una pérdida excesiva de agua, por otro lado, aunque se han reportado igualmente plantas con metabolismo C<sub>3</sub>, existen modificaciones morfológicas y anatómicas que les permiten también ser exitosas. Otras peculiaridades que se pueden mencionar son tanto la presencia de hojas suculentas con tejidos almacenadores de agua, como de tricomas foliares peltados altamente especializados en la forma rápida e intermitente de agua. También hay diferentes especies que cuentan con el desarrollo de una estructura

acumuladora de agua y nutrientes conocida como tanque (como es el caso de (*Bromelia karatas* L.), a las rosetas de este tipo también se les llama fitotelmata debido a la acumulación de agua que por una parte es utilizada por la planta y por la otra, permite el desarrollo de comunidades de insectos y arácnidos, cuyos desechos las nutren (Mondragón *et al.*, 2011)

#### 2.4.1 Semilla

La semilla es la unidad de reproducción de la gran mayoría de las plantas superiores tanto terrestres, como acuáticas, desempeñan una función fundamental en la renovación, persistencia y dispersión de las poblaciones de plantas, regeneraciones de bosques y sucesión ecológica (Doria, 2010). Son fuente de alimento básico, ya que son consumidas directamente o indirectamente por el ser humano, también sirve para la producción agrícola y como alimento para varios animales domésticos (Doria, 2010).

Las semillas de *Bromelia karatas* L. son pequeñas con forma subglobosa, miden 4 mm de ancho y 3.5 mm de ancho, de cubierta seminal color marrón a negro, internamente presenta un endospermo abundante, el embrión se encuentra en la región micropilar, el cual solo ocupa el 10% de la misma (Figura 6; Lidueña y Martelo, 2018).

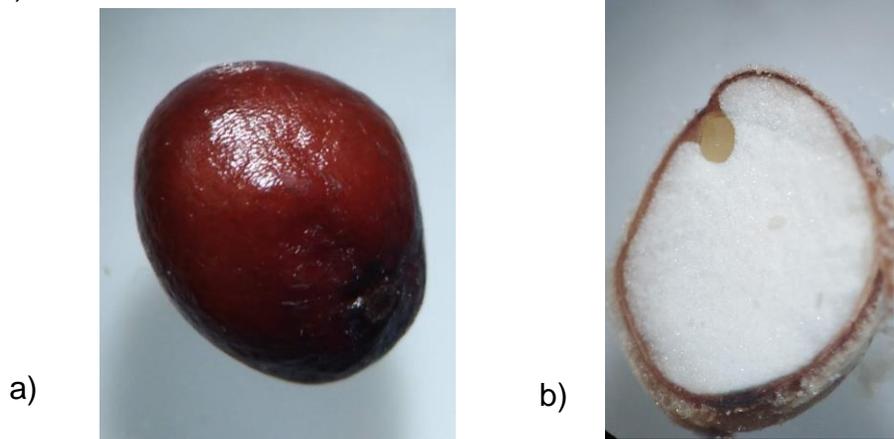


Figura 6. Semillas de *Bromelia karatas* L., a) características externas; b) características internas de la semilla.

#### 2.4.2 Características generales de semillas

Entre las estructuras básicas de las semillas de las angiospermas se puede encontrar (Figura 7 y 8):

- **Embrión:** proviene del cigoto formado por la unión del óvulo con el núcleo espermático, generalmente es diploide ( $2n$ ) y siempre está presente en las semillas viables.
- **Endospermo:** se forma de la unión de los núcleos polares del saco embrionario con uno de los núcleos espermáticos del grano de polen, es triploide ( $3n$ ) o poliploide y forma la mayor parte de las reservas nutritivas (Espíndola, 2004)
- **Perispermo:** es una forma de reserva de sustancias nutritivas en algunas especies, mientras que en otras queda reducido o es reabsorbido durante el desarrollo embrionario, procede del desarrollo de la nucela (estructura que encierra el saco embrionario y está recubierta por los integumentos con excepción de la región de la calabaza) por lo tanto tiene la misma constitución genética de la planta madre (Espíndola, 2004).
- **Cubierta seminal:** funciona como una barrera que controla la humedad, además protege contra lesiones mecánicas e impide la entrada de parásitos, está formada por los integumentos del óvulo y en ella se distinguen dos partes: la testa y el tegmen (Espíndola, 2004).
  - a) **Testa:** Procede del desarrollo de los tegumentos exteriores del óvulo y está siempre presente, es diploide y de origen materno (Espíndola, 2004).
  - b) **Tegmen:** procede del desarrollo de los tegumentos internos del óvulo y en semillas algunos casos pueden presentarse en las cubiertas de algunas semillas (Espíndola, 2004).
- **Micrópilo:** es una perforación a manera de canal que comunica a la semilla con el medio exterior, se origina en el óvulo y es el lugar por donde penetra el tubo polínico hacia el saco embrionario, generalmente es diminuto e imperceptible a simple vista, sin embargo, se puede distinguir en las semillas de algunas especies (Espíndola, 2004).

- **Funículo:** consiste en un sistema vascular localizado en la parte central de la semilla que está rodeado por un tejido cortical (parénquima): conecta el ovulo con la placenta y sirve para el paso del agua y nutrientes, de la planta madre a la semilla, durante el proceso de desarrollo (Espíndola, 2004).
- **Rafe:** es la zona donde el funículo está parcial o totalmente fusionado al ovulo y se encuentra en todas las semillas con excepción de las ortótropas (Espíndola, 2004).
- **Sarcotesta:** se origina del tegumento externo de la testa y presenta una consistencia carnosa y jugosa (Espíndola, 2004).

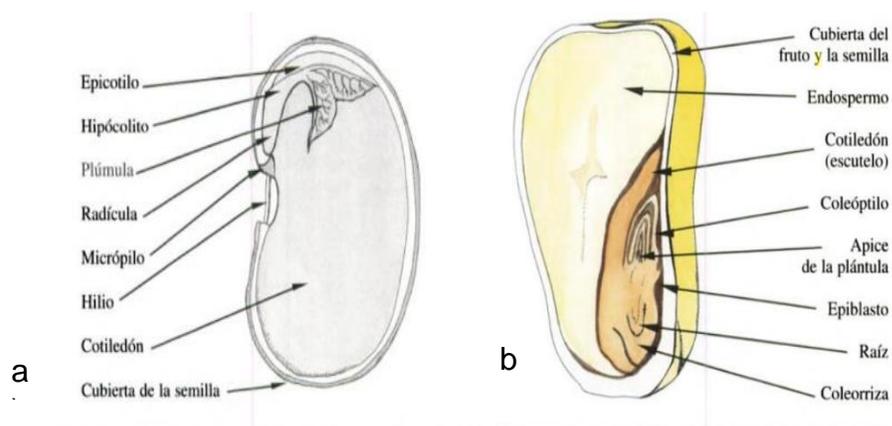


Figura 7. Ejemplo de las características internas de las semillas; a) frijol (dicotiledonea), b) maíz (monocotiledonea) (Espíndola, 2004).

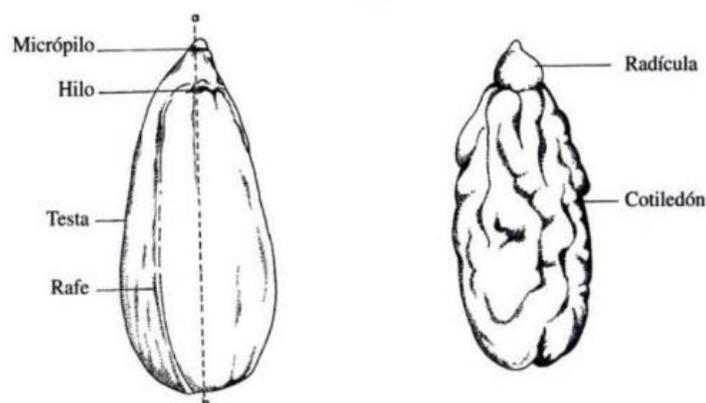


Figura 8. Características externas e internas de las semillas, utilizando como ejemplo la semilla de nogal (Espíndola, (2004).

### 2.4.3 Morfometría

La morfometría es el estudio del tamaño y la forma de los organismos o algunos de sus estructuras, debido a las variables que utiliza, la morfometría se divide en geometría y tradicional (López-Galán, 2015). En ambos enfoques se emplean métodos multivariados, por los resultados de los análisis en morfometría geométrica pueden ser observados como cambios de la forma utilizando placas de deformación, lo que hace que las interpretaciones sean más fáciles que los resultados de análisis de morfometría tradicional, los cuales solamente se expresan como tablas, coeficientes, matrices y graficas de dispersión, además, la morfometría geométrica se puede emplear en una amplia variedad de estudios, como cambios de forma con enfoques ontogénicos y filogenéticos, por mencionar algunos (López-Galán, 2015).

Uno de los rasgos morfológicos más estudiados en la ecología de semillas es el tamaño de las semillas, por ser de los elementos que he evolucionado asociado a otros rasgos morfológicos y fisiológicos, el tamaño de las semillas puede englobar diferentes atributos como largo, ancho y grosor (Figura 9), sin embargo, estos atributos no han sido estudiados en forma conjunta a pesar de jugar un papel importante al momento de colectar, transportar y almacenar semillas (Romero-Saritama y Pérez, 2016).

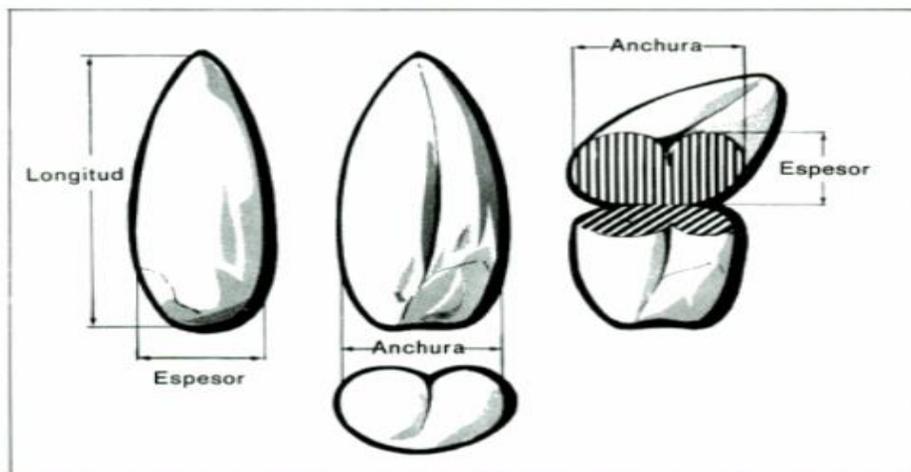


Figura 9. Ejemplo de las dimensiones en semilla de cereal, Feistritz (1985).

#### **2.4.4 Viabilidad de semillas**

La viabilidad de un lote de semillas, no durmientes hace referencia a su capacidad de germinar y originar plántulas normales en condiciones ambientales favorables (Pita-Villamil y Pérez-García, 2001). La viabilidad es la propiedad que tiene una semilla de mantener vivo el embrión, y esto se favorece con una buena recolección, un buen secado, un benéfico, apropiado y correcto almacenamiento. La pérdida de la viabilidad de la semilla puede ser un resultado de un desarrollo incompleto del embrión, las lesiones durante la cosecha o durante su beneficio o procesado, de un almacenamiento prolongado o de envejecimiento o humedad relativa muy alta durante la fase del almacenamiento (Sierra, 2005).

El contar con semillas viables, es esencial para tener éxito en la multiplicación de semillas, la viabilidad es reflejada en el porcentaje de germinación, el cual expresa el número de plántulas que puede ser producidas por cada cien semillas (Sierra, 2005). Es muy importante que las semillas almacenadas en un banco de germoplasma pueda producir plantas cuando se las siembran en el campo, por tanto, las semillas deben tener una viabilidad alta al inicio del almacenamiento y mantenerla durante largo tiempo en almacenamiento. Las semillas con una viabilidad inicial alta sobrevivirán también más tiempo en almacenamiento (kameswara *et al.*, 2017).

##### **a) Pruebas de viabilidad**

Existen varias pruebas de viabilidad entre ellas están las siguientes:

- Pruebas de corte: la prueba de viabilidad más simple y rápida es la inspección ocular de las semillas que se han abierto con un cuchillo o bisturí. Si el endospermo es de color normal y la textura con un embrión bien desarrollado, se espera que tenga buena probabilidad de germinar. La prueba siempre se debe realizar pues ofrece información valiosa y una primera impresión sobre la calidad, pero la prueba tiende a sobre estimar la viabilidad (Poulsen, 2000)
- Prueba de tetrazolium (TZ): Consiste en aplicar una sustancia química (2,3,5-trifeniltetrazolio) a los tejidos de la semilla. Este método de TZ indica áreas vivas y muertas del embrión y del endospermo mediante tinción o coloración, los iones de hidrógeno se producen solamente en áreas de las semillas donde

las enzimas de hidrógeno están activas, consecuentemente son áreas donde se tiñe de color rojo (Poulsen, 2000). A veces, los embriones se tiñen parcialmente, lo que indica existencia de áreas de tejido muerto, debido al deterioro de la semilla, en estos casos la posición y el tamaño de las áreas necróticas, y no necesariamente la intensidad del color, es el índice que se utiliza para clasificar a las semillas como viables o no viables (Figura 10) (Pita-Villamil y Pérez-García, 2001).

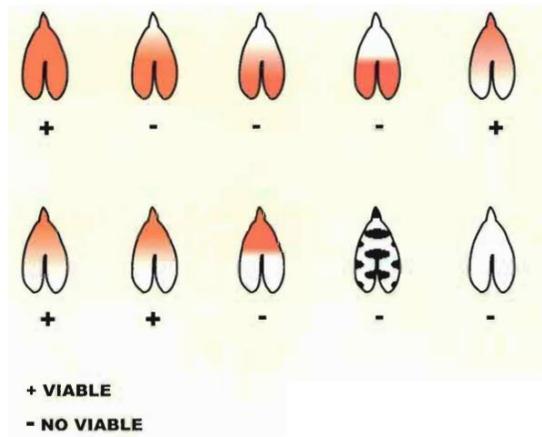


Figura 10. Diferentes patrones de tinción que puede presentar los embriones, Pita-Villamil y Pérez-García (2001).

- Método de hidrógeno ( $H_2O_2$ ): la principal ventaja de este método es su simplicidad. El proceso se muestra en la Figura 11. Al final de la prueba se encuentra las semillas con radículas mayores de 1mm.

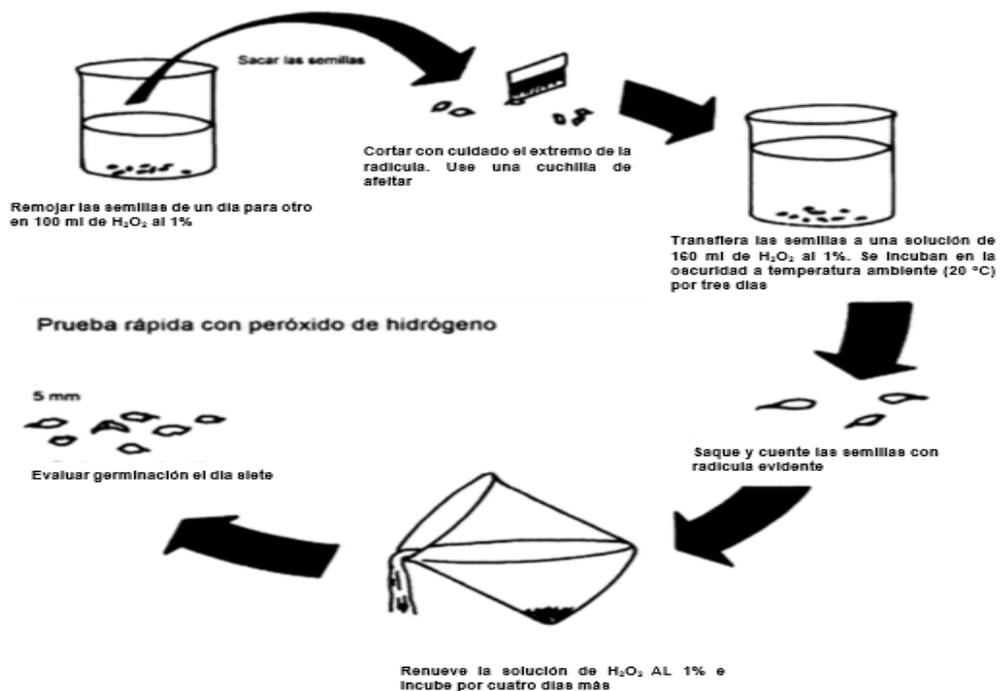


Figura 11. Procedimiento de la prueba de peróxido de hidrógeno, Poulsen (2000).

La base de la prueba de  $H_2O_2$  es aún incierta, pero se cree que amplía la fase temprana de germinación incrementando el nivel de oxígeno en el ambiente y por tanto la respiración (Poulsen, 2000).

- Prueba de separación: el objetivo de esta prueba es acelerar la germinación de cierta clase de semillas que germinan lentamente o muestran latencia en una prueba de germinación. Para las semillas con una latencia muy profunda impuesta por las envolturas del embrión, esta prueba ofrece un rápido estimado sobre su viabilidad (Poulsen, 2000).
- Pruebas de rayos-X: el objetivo de esta prueba es proveer un método rápido no destructivo entre semillas vacías y completas dañadas físicamente por insecto en sus características morfológicas evidentes en una radiografía de rayos-X (Poulsen, 2000).

### **2.4.5 Humedad**

El contenido de humedad de las semillas, es la cantidad de agua que hay en una semilla. El agua está presente tanto en la forma libre como combinada con los compuestos químicos de la célula, como los carbohidratos y las proteínas (Kameswara *et al.*, 2017). El contenido de humedad de las semillas cambia constantemente en función de la temperatura y la humedad relativa del medio ambiente que rodea a las semillas, las semillas son higroscópicas, absorben fácilmente y liberan agua en función de la cantidad de agua que las rodea. Las semillas absorben o pierden humedad hasta que la presión del vapor de la humedad de la semilla y la humedad ambiental logran un equilibrio; en este punto las semillas alcanzan un contenido de humedad específico y característico: el contenido de humedad de equilibrio, (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2019).

El contenido de humedad es el factor más importante para determinar la velocidad a la cual las semillas se deterioran, y tienen un impacto considerable en la longevidad de las semillas en almacenamiento en un banco de germoplasma. Incluso pequeños cambios en el contenido de humedad tienen un gran efecto en la vida en almacenamiento, es importante determinar el contenido de humedad antes de almacenar las semillas para predecir con exactitud el potencial de vida en almacenamiento que tendrá cada accesión (Kameswara *et al.*, 2017).

#### **a) Pruebas de humedad**

**Los métodos para medir la humedad son:**

- Método de la estufa con corriente de aire: Es el método recomendado para que los laboratorios de semillas efectúen las pruebas de humedad, en este método, se pesa una cantidad inicial de semillas y luego colocan dentro de la estufa para que se seque, este trabajo se puede realizar de dos maneras: (a) a altas temperaturas y un tiempo dado y (b) a bajas temperatura y un tiempo igualmente dado. En el método de alta temperatura, se coloca la muestra a una temperatura de a 130° centígrados por cuatro horas (maíz); otros cereales por dos horas y otras semillas por una hora. En el método a baja temperatura, se coloca la

muestra de semillas a 103° centígrados por 17 horas, luego de cumplido el tiempo, la muestra se saca de la estufa y se enfría dentro de un desecador, una vez fría, se vuelve a pesar y la pérdida de agua, nos indica la humedad que tenía la semilla, las semillas de tamaño grande son molidas y las pequeñas, se dejan enteras (Giraldo, 2004).

- Sensores de humedad digitales: hoy en día, varios bancos de germoplasma emplean sensores de humedad digitales para calcular el contenido de humedad. Estos métodos se basan en el hecho de que las semillas ganan o pierden humedad rápidamente dependiendo de su entorno, las semillas húmedas pierden humedad en condiciones de aire seco mientras que la ganan en un entorno de aire húmedo, después de un periodo de tiempo suficiente, no existe mayor movimiento de humedad entre las semillas y el aire; en ese momento, se dice que las semillas se encuentran en equilibrio, los sensores de humedad digitales miden la cantidad de vapor de agua en el aire en equilibrio con una muestra de semillas colocada en una cámara sellada (Kameswara *et al.*, 2017)

#### **2.4.6 Almacenamiento de semillas**

Desde el inicio de la agricultura, el almacenamiento de semillas ha sido una práctica habitual de los agricultores, ya sea para su siembra o para su uso como alimento. No obstante, no es hasta mediados del siglo XX cuando se comienza a establecer instituciones dedicadas, de forma sistemática, a la conservación a largo plazo de semillas (Pita-Villamil y Pérez-García, 2001)

La principal razón del almacenamiento de las semillas es su distribución en el tiempo y en el espacio, lo que, bajo el punto de vista de su empleo para el reproductor, debe permitir su longevidad, es decir, la conservación de su viabilidad y vigor adecuado en los lugares más apropiados para su germinación y establecimiento, durante un tiempo razonable, sin embargo, el interés por la conservación de las semillas puede obedecer a razones muy diversas, dependiendo del usuario final de este germoplasma, por otra parte, todos los agricultores deben conservar sus semillas durante un periodo corto de tiempo hasta la siguiente campaña de cultivo, mientras que en los bancos de germoplasma, los conservadores

de recursos filogenéticos se emplean su almacenamiento durante periodos de tiempos largos, en ambas situaciones extremas se encuentran la conservación de semillas de uso forestal o de restauración para empleo por parte de gestores (públicos o privados) de recursos filogenéticos para el desarrollo de proyectos de aplicación más o menos inmediata (Gálvez, 2003).

#### **a) Tipos de almacenamiento**

- Almacenamiento en seco y frío: se dispone de cámaras frigoríficas con una temperatura alrededor de los 4 °C y una atmosfera seca. Se utiliza para semillas con mucho contenido de aceites, de viabilidad sensible y poca humedad (Millán *et al.*, 2004).
- Almacenamiento a temperatura ambiente: aunque este debe ser lo más fresco, estable y seco posible. Las semillas se disponen en recipientes herméticos. Se utiliza para semillas de viabilidad resistente o en periodos cortos de almacenamientos (Millán *et al.*, 2004).
- Almacenamiento en frío y humedad: las semillas se disponen en recipientes con arena o turba, a la que se le añade una cantidad de agua (de 15 a 18 litros por 100 kg de arena), estos recipientes se colocan en cámaras frigoríficas a 2 o 3 °C. se utiliza para almacenar semillas con altos grados de humedad, a las que los ambientes secos le producen daños que comprometen su viabilidad (Ej. Bellotas y castañas) (Millán *et al.*, 2004).
- Almacenamiento en vacío parcial: se utiliza para semillas de pequeño tamaño y viabilidad fugaz. En los recipientes que contienen las semillas se producen un vacío parcial (Millán *et al.*, 2004).

#### **b) Factores de almacenamiento**

Existen factores físicos, químicos y bióticos que afectan el almacenamiento (Doria, 2010), entre los cuales están:

- 1) Factores físicos:** los factores físicos más importantes a considerar durante el almacenamiento son: la humedad de equilibrio de las semillas, la humedad relativa y la temperatura de almacenamiento que la rodean, ya que estos dos son los que inciden principalmente sobre su contenido de humedad (Doria, 2010).

- **Humedad de equilibrio y humedad relativa del aire:** conocer cuáles son los mecanismos de transferencia entre las semillas y el aire que las rodea es de vital importancia, pues ayuda a tomar decisiones sobre las operaciones de almacenamiento. Las semillas son higroscópicas y absorben o liberan humedad, dependiendo del ambiente donde se les coloque y su contenido de humedad final se estabiliza cuando estas se exponen a un ambiente específico por un periodo de tiempo determinado, lo cual se conoce como “humedad de equilibrio”. Esta depende del tipo de semillas, de la temperatura y la humedad relativa del aire circulante. Si el contenido de humedad de las semillas es alto, mayor que el de la humedad de equilibrio, para un ambiente dado, la semilla liberará humedad al ambiente, por si lo contrario es menor, entonces absorberá del aire (Doria, 2010).
  - **Temperatura:** el contenido de humedad de las semillas también se incrementa cuando aumento la temperatura siempre y cuando la humedad relativa permanezca estable. Pero cuando la temperatura del aire se calienta, las semillas disminuirán humedad. No obstante, hay que señalar que la temperatura y la humedad relativa actúan en forma independiente, por lo tanto, si una aumenta hay que disminuir la otra (Doria, 2010).
- 2) Factores químicos:** Entre los factores químicos, el oxígeno y el bióxido de carbono influyen fuertemente sobre los granos y semillas almacenados, lo que relacionado con el volumen y la porosidad de las semillas almacenada y los procesos de respiración, las semillas son organismos conformados por células vivas que respiran para producir la energía necesaria para los diversos procesos metabólicos (Doria, 2010).
- 3) Factores bióticos:** Los factores bióticos como insectos y microorganismos, pueden causar serios problemas cuando se encuentra asociados a la nada de las semillas, llegando inclusive a ocasionar serios problemas al valor agrícola y comercial de estas. La presencia de hongos, bacterias e insectos y sus ciclos reproductivos están vinculados con la humedad relativa y la temperatura de almacén (Doria, 2010).

### 2.4.7 Germinación

La germinación es el proceso que se inicia con la toma de agua por la semilla seca (imbibición) y termina cuando una parte de esta (eje embrionario en dicotiledóneas o radícula en monocotiledóneas o gimnosperma) atraviesa las estructuras envolventes que la rodean (emergencia) (Matilla, 2008). En el caso de las semillas endospermicas (como las de las gramíneas), la resistencia que oponen estas estructuras (testa y endospermo) al embrión es tan grande, que para que se produzca la emergencia es necesario la degradación enzimática de varias zonas de dichas estructuras (Matilla, 2008).

Normalmente; durante el proceso de germinación se distinguen tres fases sucesivas, más o menos diferenciadas (Barceló *et al.*, 2019): **Fase I**, se caracteriza por una toma rápida inicial debida, que el potencial hídrico de la semilla es mucho más bajo que el del medio húmedo que la rodea. La entrada de agua en esta fase puede producir algunas perturbaciones estructurales temporales, particularmente en las membranas, lo que provoca una rápida e inmediata salida de solutos y metabolitos de bajo peso molecular al medio. Este es un síntoma indicativo de la transición de los fosfolípidos de la membrana desde la fase del gel adquirida durante la desecación al estado hidratado normal. En breve periodo de las membranas recuperan su configuración estable y el goteo de solutos e interrumpe. **Fase II**, es una fase de meseta en la que el potencial hídrico de la semilla no excede valores de -1 a -1.5 MPa. Durante esta fase tiene lugar los principales acontecimientos metabólicos que conducen a la emergencia de la radícula en semillas no durmientes. Las semillas durmientes son también metabólicamente activas en esta fase. **Fase III**, solo las semillas aptas para germinar entran a la fase III, en la que tiene lugar un nuevo incremento en la toma de agua y que es concurrente con la elongación de la radícula.

#### a) Tipos de germinación

La germinación, consiste en un proceso que permite que las semillas pasen de un estado de vida latente a un estado de vida activa y originar una plántula, según la

posición de los cotiledones durante este proceso, distinguimos dos tipos de germinación: hipógea y epigea.

- Durante la germinación hipógea de las semillas, los cotiledones no emergen y persisten bajo el suelo dentro de la epidermis. En este caso, la función de los cotiledones se reduce a almacén de nutrientes para ayudar al desarrollo de plántulas, de la radícula y de las primeras hojas y también el alargamiento del tallo correspondiente al epicótilo, razón por la cual los cotiledones quedan inmovilizados en el interior de las semillas y, por tanto, ocultos bajo el suelo (Figura12).

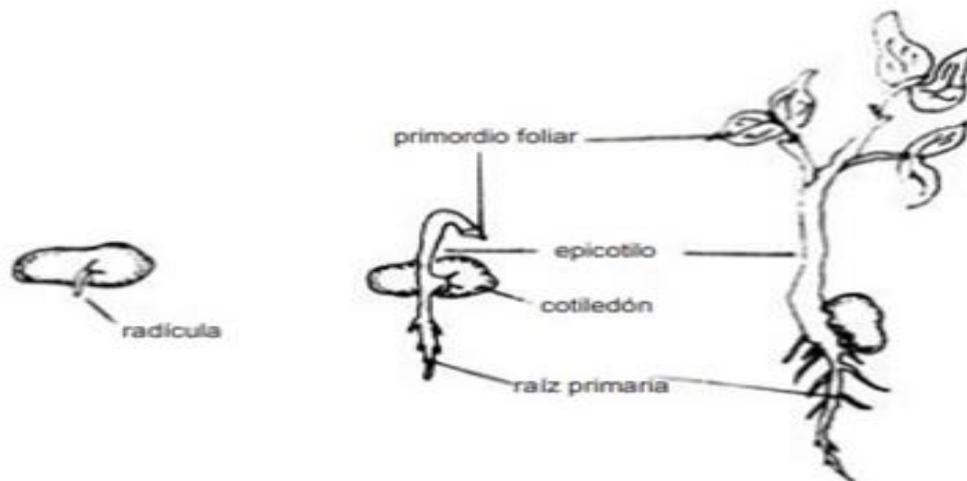


Figura 12. Ejemplo de germinación hipógea, en semillas de haba (Recasens y Conesa, 2009).

- En la germinación epígea, al mismo tiempo que los cotiledones rompen la testa de la semilla son empujados hacia arriba gracias al desarrollo y alargamiento del hipocótilo, sin embargo, la plúmula, plenamente desarrollada, continúa su crecimiento, será entonces el epicótilo el órgano que desarrollará el primer entrenudo y nudo foliar, y, más tarde, constituirá el verdadero tallo. Tras la aparición de los cotiledones, les seguirán las primeras hojas verdaderas o monofilos, que mostrarán, según las especies, cierta variabilidad en cuanto a su morfología (Figura 13) (Recasens y Conesa, 2009).

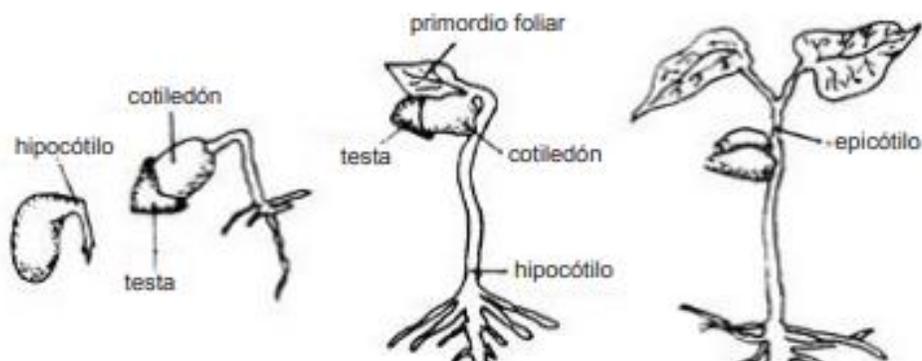


Figura 13. Ejemplo de germinación epigea, semilla de frijol (Recasens y Conesa, 2009).

### b) Tratamientos pregerminativos

Para mejorar el proceso y acelerar la obtención de plántulas, existen diversos tratamientos pregerminativos como la escarificación mecánica, química o física, entre otros. **La escarificación** consiste en un proceso que tiene por finalidad hacer que la testa u otras capas de la semilla sean más permeables al agua y al aire, de tal modo que no interfieran en la germinación; y esta puede ser física, química o mecánica. En la escarificación física, el ablandamiento de la cubierta de la semilla y otras envolturas se efectúa mediante la exposición de la semilla en agua caliente a una temperatura entre 77 y 100 °C; en la mecánica a través del rozamiento de cualquier material abrasivo sobre la semilla, que puede ser desde el uso de papel de lija hasta arena gruesa; y en la química el proceso suele ser llevado a cabo por medio de la inmersión de las semillas en líquidos corrosivos, de los cuales el más usado es el ácido sulfúrico concentrado (Hartmann y Kester, 2001).

Los **Tratamientos químicos** empleados para mejorar la germinación están aquellos con reguladores de crecimiento como el ácido giberélico, que tiene propiedades estimuladoras de la germinación y en la elongación celular. Con el uso de estas fitohormonas se han comprobado que se superan los periodos de latencia que se presentan en las semillas de algunas especies arbóreas; pues ellas actúan como sustitutos de bajas temperaturas, días largos o luz roja. Además, favorecen la elongación y emergencia de la radícula a través del endospermo, la cubierta seminal o la cubierta del fruto que restringen su crecimiento (Salisbury y Ross, 2000).

### III. ANTECEDENTES

En la actualidad es poca la investigación existente sobre estudios realizados con *Bromelia karatas* L. A continuación, se presentan trabajos relacionados con el tema de investigación:

#### 3.1 Morfología y Fisiología

Zúñiga y Caldón (2008), llevaron a cabo un estudio en la vereda El Puro del municipio Patía, departamento Cauca, Colombia. Pretendieron dar una nueva alternativa de cultivo y aprovechamiento de *Bromelia karatas* L. además se realizó una selección de plantas madres de piñuela para mejorar la producción, calidad y valor agregado del fruto, por lo cual este estudio fue dividido en cuatro componentes: Descripción morfológica, sistematización del conocimiento tradicional, descripción de criterios de selección participativa de plantas madres de piñuela y sensibilización a la comunidad con la finalidad de concientizarlos sobre potencialidades de la piñuela para la región. Para el primer componente encontraron que *Bromelia karatas* L. se caracteriza por ser acaule, raíces horripiladas, tallo inconspicuo, hoja lanceolada y arrosetadas, inflorescencia y fruto fusiforme, 2). No existen áreas de cultivo de piñuela y solo es utilizada como cercos vivos, sus frutos solo se utilizan en consumo fresco y en bebidas refrescantes, 3). La definición de selección permitió dar indicios de adaptación de la especie bajo condiciones de cultivo, obteniendo plantas homogéneas con buen vigor y porte. 4). Brindaron alternativas de aprovechamiento y conservación del fruto, generando así un valor agregado que le permite a la comunidad mejorar sus condiciones de vida al tener fuentes de ingreso.

González-Salvatierra *et al.* (2013), realizaron estudios en el parque Nacional Dzibilchaltún, Yucatán, México, observaron las respuestas anatómicas, morfológicas y fisiológicas *Bromelia karatas* L. evaluadas en dos microambientes de luz y en dos temporadas del año. Encontraron que las características morfológicas y fisiológicas de las hojas reflejaron la influencia del ambiente, lo que les permitió conservar potenciales hídricos diurnos elevados y minimizar la pérdida de agua para mantener la fotosíntesis. Estas características, en conjunto con las espinas foliares y el

crecimiento asexual de esta especie, puede ayudar a explicar la importancia ecológica en esta selva baja caducifolia.

Montes *et al.* (2014), llevaron a cabo su estudio en el municipio Patía, del departamento Cauca. Colombia, realizaron una descripción morfológica de la planta *Bromelia karatas* L. para contribuir al conocimiento de la especie y ayudar a definir caracteres de selección para la recuperación y aprovechamiento de la misma, dicha descripción morfológica la realizaron mediante observaciones en campo de plantas usadas como cercas vivas, para posteriormente analizarla en laboratorio. Los resultados mostraron que la planta, se caracteriza por ser acaule, poseer raíz horripida, tallo inconspicuo, hoja lanceolada y arrosetadas, inflorescencia sésil y fruto fusiforme, agridulce y jugoso.

### **3.2 Cultivo *in vitro***

Albarrán-Mondragón *et al.* (2015), establecieron condiciones de cultivo *in vitro*, donde incluyeron métodos de escarificación para lograr su germinación y obtener cultivos celulares de *Bromelia karatas* L. colectaron infrutescencias maduras de esta especie. Las semillas fueron desinfectadas con diferentes agentes asépticos a diferentes concentraciones y tiempos, y se sembraron en medio *Murashige* y *Skoog*, a la mitad de su concentración. Todos los experimentos y las determinaciones se realizaron en lotes de 5 tubos y/o frascos conteniendo 5 semillas en cada caso y se realizaron por triplicado. Se evaluó el porcentaje de contaminación, oxidación y germinación. Como resultados obtuvieron que, el establecimiento de cultivo aséptico y la germinación (100 %) de semillas de *Bromelia karatas* L., se logró con 0% de contaminación para las semillas cuando se trataron con detergente (1%-15 min), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (98%-5 min) e hipoclorito de sodio (0.6%- 10 min). La germinación se inició a los 5 d. y hasta 120d, representando 36 veces menos el tiempo necesario, al compararse con datos reportados de campo.

Albarrán-Mondragón (2016), estableció cultivos *in vitro* de *Bromelia karatas* L. y analizaron el contenido de fenoles totales. Para el establecimiento de cultivos *in vitro*, las semillas y explantes foliares fueron sembradas en medio de cultivo *Murashige* y *Skoog* (MS) suplementado con diferentes reguladores del crecimiento vegetal y bajo

diferentes concentraciones. Lograron establecer el cultivo aséptico de semillas y hojas, así como la germinación bajo diferentes tratamientos de escarificación (66.25-100%). Las semillas sembradas en medio MS conteniendo 2 mg/L de ácido 2,4-diclorofenoxiacético con 1.0 mg/L de 6-bencilaminopurina formaron callo (78.57%), de apariencia compacta, verde y organogénico. Por otro lado, plántulas germinadas in vitro sirvieron como fuente de explantes foliares que se sembraron en medio para inducción de callo. Así mismo determinaron el contenido de fenoles totales por espectrofotometría UV-Vis. Los resultados proporcionan información para la aproximación en el uso de éste fruto en la medicina tradicional contra la diabetes dando alternativas de cultivos que permitan utilizar y conservar dicho recurso de manera sustentable.

### **3.3 Ecología**

Hernández (2018), realizó su estudio en los municipios de Mercaderes y el Patía, Cauca. Colombia, realizó una identificación de hongos y bacterias asociados a la especie *Bromelia karatas* L. En donde obtuvieron 40 aislamientos fúngicos, los cuales fueron caracterizados morfológicamente e identificados a través de un análisis de Inferencia Bayesiana y *Neighbor-Joining*, de igual forma, se obtuvieron 14 aislamientos bacterianos los cuales fueron caracterizados morfológica, bioquímica e identificados molecularmente mediante un análisis. De esta forma, generó el primer reporte de microorganismos asociados al cultivo de piñuela y con esto, información básica para posteriores estudios epidemiológicos y control biológico que faciliten el aprovechamiento agronómico de este cultivo.

### **3.4 Medicinal**

Andrade y Medina (2013), observaron los efectos hipoglucémicos de dos extractos obtenidos de la planta *Bromelia karatas* L. (BP) en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina-nicotinamida (STZ-NA). Se prepararon y probaron dos extractos diferentes de *Bromelia karatas*. El primer extracto fue un extracto de agua (WE), similar al que se usaba tradicionalmente para hacer té, y el segundo extracto fue un extracto de etanol y agua (EWE). Se prepararon dos extractos diferentes, n-hexano y butanol, para determinar la presencia de alcaloides, terpenos y flavonoides. Los

extractos que se administraron a las ratas diabéticas inducidas por STZ-NA produjeron un efecto hipoglucémico significativo en comparación con el grupo control, similar al logrado con glibenclamida. También determinamos que los flavonoides eran los componentes principales de las hojas de *Bromelia karatas* L. Los resultados presentados aquí apoyan la hipótesis de que los extractos obtenidos de esta planta tienen efectos hipoglucémicos, que están de acuerdo con los usos tradicionales de esta planta.

Maza-Espinoza *et al.* (2017), evaluaron la actividad enzimática y la caracterización parcial de las proteasas de los frutos de *Bromelia karatas* L. y lo compararon con las proteasas de *Bromelia pinguin*. La actividad específica aumentó dos veces después de la purificación parcial en ambas proteasas. Las proteasas parcialmente purificadas de *B. karatas* mostraron una buena actividad específica a un pH de 6.0–8.0 y una actividad residual del 70–100% durante 60 minutos a 37–60 °C, similar a las proteasas de *B. pinguin*. El valor de  $K_m$  de las proteasas de *B. karatas* fue mayor (253.32  $\mu\text{M}$ ) que el de las proteasas de *B. pinguin* (234.94  $\mu\text{M}$ ). El uso de inhibidores específicos de la proteasa indicó la presencia de cisteína y serina proteasas. Se detectaron proteasas con un peso molecular de 66.2–97 y 21–31 kDa. Las proteasas de *B. karatas* L. registraron un 73% de hidrólisis utilizando un concentrado de proteína de soya, similar a la actividad enzimática de las proteasas de *B. pinguin* y la *bromelia* comercial. Estos resultados demuestran que las proteasas de *Bromelia karatas* podrían ser una proteasa alternativa potencial en la industria alimentaria.

Villanueva-Alonzo *et al.* (2018), avaluaron la actividad proteolítica de frutos silvestres de *B. karatas* L. bajo distintas condiciones, de temperatura (incubación: 30, 40, 50, 60 y 70 °C), pH (6, 7, 8, 9, 10 y 12) Y NaCl (5,10 y 20 %) y estimaron la estabilidad térmica de las proteasas, que fue evaluada a 30,50 y 70 °C durante 240 minutos. Como resultados obtuvieron que la actividad proteolítica del extracto de frutos de *B. karatas* L. (8.59  $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ ), fue mayor que la de *Ananas comosus* (3.42  $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ ). La actividad fue mayor en valores de pH 6 y 7, y en concentraciones menores de 5% de NaCl y las proteasas se mantuvieron estables a 30 y 50 °C

durante 210 minutos. Un zimograma bidimensional, bajo condiciones controladas no reductoras, mostro por lo menos 40 zonas claras con peso molecular aparente entre 27.3 y 290 kDa, que representa potencialmente proteasas. Concluyendo que las proteasas de *B. karatas* L. tiene potencial de aplicación en la industria alimentaria.

### 3.5 Tratamientos pregerminativos

Montejo *et al.* (2005), determinaron los efectos de los tratamientos de escarificación acida, combinados o no con los de hidratación-deshidratación en agua y estrés calórico, en la germinación de semillas de *Talipariti elatum* y en el vigor de las plantas en vivero; las semillas procedían de un bosque siempre verde y de una zona de vegetación secundaria del occidente de Cuba. Dichos tratamientos fueron: T1) semillas escarificadas en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> durante una hora; T2) semillas escarificadas en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> durante 20'; y T3) sometidas al tratamiento T2 más hidratación parcial en agua durante 56 horas (dos horas antes del inicio de la germinación para las semillas escarificadas), la fase de hidratación parcial se realizó a 25/35°C durante 56 horas y la fase de deshidratación a 25 ± 2 °C durante 48 horas, además las pruebas se realizaron en tres condiciones de temperatura alterna del sustrato: 25/30 °C, 25/35 °C y 25/40 °C. Encontrando que un ciclo de hidratación parcial en agua combinado con la escarificación previa de las semillas, fue el procedimiento más adecuado para incrementar la germinación en condiciones de estrés calórico (25/40 °C), la emergencia y el vigor de las plantas en vivero.

Sánchez-Paz y Ramírez-Villalobos (2006), evaluaron el efecto de tratamientos pregerminativos en la germinación y las características morfológicas de *Leucaena leucophala* y *Prosopis juliflora* (cuji). En *L. leucophala*, trataron las semillas por 10 min en agua caliente (80°C), dos horas de remojo en agua (25°C), escarificación con lija #80 por 20 y 40 min y un testigo. En *P. juliflora*, se sembraron con o sin la cubierta natural con 21 días de almacenamiento o frescas, cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones de 100 semillas cada una. Cada 4 días registraron el porcentaje de germinación (PG) y la tasa de germinación (TG) y a los 32 días el número de hojas (NH), altura de la plántula (AP), longitud de la raíz (LR), diámetro de la raíz (DR) y del tallo (DT). La germinación se inició al cuarto día y fue constante a partir de

los 20 días en *L. leucophala* y a los 16 en cují. En *L. leucophala* el tratamiento agua caliente (80°C) por 10 min fue el mejor, con 91.5 % de germinación, la TG varió de 12.82 a 14.88 días, se encontró correlación positiva ( $P < 0.01$ ) en AP, LR, DR, DT y NH a excepción de DR con AP y LR. En cují, la siembra de semillas frescas con la cubierta natural mostró el máximo PG (29%). La TG fluctuó entre 7.43 y 10.01 días, se encontró relación positiva en la AP con LR y NH, de la LR con el NH y del DR con DT. Los tratamientos incrementaron la germinación en semillas de *Leucaena* y cují.

Flores-Pacheco *et al.* 2015, evaluaron el efecto de cinco tratamientos pregerminativos en la calidad y estructura de las plantas de guapinol (*Hymenaea courbaril*) midiendo el índice de germinación y velocidad de emergencia, parámetros de calidad (altura y diámetro) junto con la de biomasa (peso fresco y seco) de las plántulas, con lo que se estimó el índice de Dickson. Cada tratamiento constó de 50 repeticiones para un total de 250 plántulas dentro del experimento. Los resultados muestran diferencias entre los tratamientos tres (hidratación) y cuatro (escarificación mecánica) respecto al tratamiento uno (térmico) y dos (químicos) donde no hubo diferencia estadística significativa. El tratamiento cinco (testigo) presentan un efecto positivo entre la aplicación de tratamientos pregerminativos y el aumento de calidad de la plántula de un 93%, esto se traduce a mayores posibilidades de sobrevivir de la planta al ser trasplantada en campo. De probarse la combinación de los tratamientos uno y tres.

Piril-Gaitán, 2015, evaluó diferentes tratamientos de escarificación en la semilla de papaya, utilizando un diseño experimental completamente al azar con arreglo bifactorial, con tres repeticiones y 12 tratamientos. Se emplearon dos genotipos, semillas criollas y semilla certificada Tainung 1. Las modalidades de escarificación fueron: imbibición con agua durante 120 horas, térmico a 50°C durante media hora, ácido fosfórico al 85% durante 5 minutos, ácido nítrico 0.1 N durante 5 minutos, ácido giberélico 0.1% durante 24 horas y tratamiento testigo. Las variables de medición fueron: porcentaje y tiempo de emergencia que se hizo una lectura diaria empezando a los 12 días y terminando a los 40 días; tamaño, diámetro, materia seca y verde de las plántulas a los 45 y 90 posteriormente a la siembra de la

semilla; biomasa y volumen radicular, a los 30, 60 y 90 días posteriormente a la siembra de la semilla, y rentabilidad de cada tratamiento. Ningún tratamiento presento diferencias estadísticas significativas en el porcentaje y tiempo de emergencia de plántula de papaya para el genotipo criollo. Se encontraron diferencias significativas en el crecimiento de las plántulas de papaya para las variables alturas, diámetro, materia seca y verde a los 45 días, biomasa a los 60 días y volumen radicular a los 20 y 60 días para ambos genotipos.

Gutiérrez-González, 2016, evaluó diferentes tratamientos pregerminativos para determinar el proceso germinativo, dichos tratamientos fueron: lijado, remojo en HCL por cinco y diez minutos, remojo en agua por cuatro días a temperatura ambiente y remojo en agua a 75°C), también se evaluó periodos de almacenamiento (30, 60, 80 y 120 días), se encontró que a los 30 días de almacenamiento se obtienen mejores resultados de germinación 73, 32, 69, 83, 71 y 70%, siendo HCL por 10 minutos el tratamiento pregerminativo más efectivo que alcanzo 83% y después de 90 y 120 días de almacenamiento el porcentaje de germinación comienza a bajar mostrando los porcentajes más bajos a los 120 días de ser almacenadas 45, 5, 37, 42, 55 y 10 % siendo el porcentaje más alto hidratación con agua a temperatura ambiente por cuatro días (55%), en este estudio también se pudo obtener características de la infrutescencia, fruto y semilla el cual se obtuvo por cada infrutescencia contiene un promedio de 1 113 frutos y el peso promedio de cada fruto es de 0.25 g y 0.11 g se la semilla.

## IV. OBJETIVOS

### 4.1 General:

Determinar la morfología y fisiología de la piñita de monte (*Bromelia karatas* L.), con la finalidad de contar con información básica que permita desarrollar estrategias de conservación y manejo sustentable en zonas rurales de Chiapas, México.

### 4.2 Específicos:

- Describir la morfometría de los frutos y semillas de *Bromelia karatas* L.
- Evaluar el porcentaje de viabilidad, humedad y el efecto de tratamientos pregerminativos (escarificación química e hidratación en agua) en el proceso de germinación de las semillas de *Bromelia karatas* L., en periodos de 0 y 12 meses de almacenamiento.
- Describir el proceso germinativo, crecimiento y desarrollo de *Bromelia karatas* L.

## V. ZONA DE ESTUDIO

### 5.1 Zona de estudio

Los frutos se recolectaron del municipio Acala que se encuentra en la “Depresión Central” en el Estado de Chiapas, México. Dicho municipio colinda al Norte con los municipios de Zinacantán, Chiapa de Corzo, San Lucas y Chiapilla, al Sureste con Venustiano Carranza y Totolapa y al Suroeste continúa colindando con el municipio de Chiapa de Corzo (Figura 14). Dicho municipio se encuentra en las coordenadas: 16°33” N Y 96°48” W, con una altitud de 497m. Su extensión territorial es de 480.77 km<sup>2</sup> y representa el 2.3% del territorio de la Región Central y el 0.3% de la superficie estatal (Villavicencio-Valenzuela y Urbieta-Estudillo, 2010).

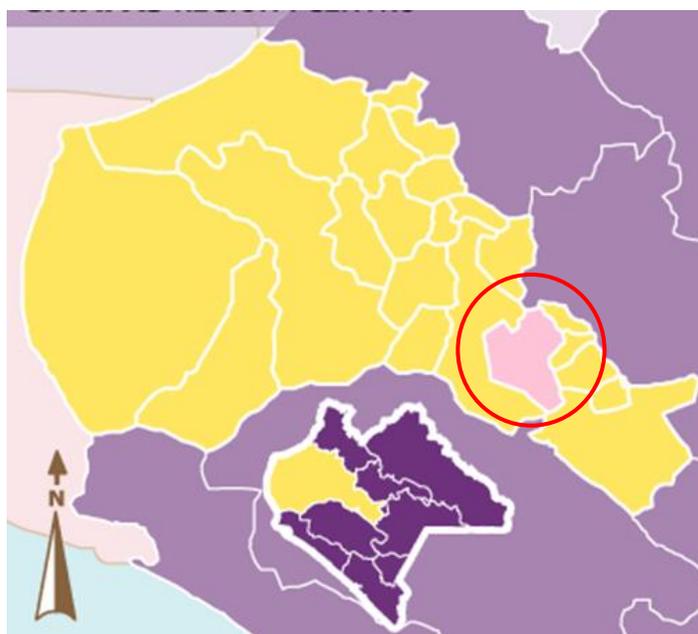


Figura 14. Mapa de villa de Acala (señalado en color rosa, dentro del círculo rojo) (Villavicencio et al., 2010).

#### 5.1.1 Clima

El clima es cálido subhúmedo con lluvias en verano, la temperatura media anual de la cabecera municipal es de 26.2°, con una precipitación pluvial de 1,000 milímetros (Villavicencio-Valenzuela y Urbieta-Estudillo, 2010).

### **5.1.2 Hidrología**

El territorio del municipio es irrigado fundamentalmente por el río Grijalva y sus afluentes como son: Chiquito, *Nandayusí*, *Nandamujú*, Trapiche, *Nandamilaná*, Nandayapa y Ceibo (Villavicencio-Valenzuela y Urbieta-Estudillo, 2010).

### **5.1.3 Vegetación**

La región donde se encuentra en municipio Villa de Acala, presenta una cobertura vegetal compuesta principalmente por vegetación secundaria de selva caducifolia, bosque de encino y coníferas con 16.19% y vegetación inducida 12.39%, la región en donde se encuentra, es dominada por las especies que pierden sus hojas en la época de seca del año durante el lapso de 5 a 6 meses, lo que constituye la característica más sobresaliente de esta forma vegetal, además su riqueza biológica posee una belleza extraordinaria que permite identificar dos aspectos estacionales completamente diferentes (Villavicencio *et al.*, 2010). La región donde se encuentra Acala, está conformado por árboles que miden 15 metros en promedio, la cual comprende de varias especies como el palo mulato (*Bursera simaruba*), copal (*Protium copal*), cedro rojo (*Cedrela odorata*), ceiba (*Ceiba pentandra*), caobilla (*Swietenia humulis*), jocote (*Spondias purpuera*), mientras que en el municipio de Acala los más resaltantes son: nanche (*Byrsonima crassifolia*), roble (*Quercus robur*), por mencionar algunas (Villavicencio-Valenzuela y Urbieta-Estudillo, 2010).

### **5.1.5 Fauna**

Esta región posee una gran cantidad de especies amenazadas o en peligro de extinción, entre las que destacan el tlacuache (*Didelphis marsupialis*), brazo fuerte (*Tamandua mexicana*), ardilla (*Sciurus sp.*), tigrillo (*Leopardus tigrinus*), heloderma (*Heloderma horridum*), la boa (*Boa constrictor*), cantil (*Agkistrodon bilineatus*), iguana (*Iguana iguana*), entre otras (Villavicencio-Valenzuela y Urbieta-Estudillo, 2010).

## VI. MÉTODO

### 6.1 Recolecta de los frutos

En un cuadrante de 1 000 m<sup>2</sup>, se localizaron 10 plantas en estado reproductivo (Figura 15), de las cuales se obtuvieron los frutos, que fueron colocados en bolsas de papel estraza y transportados al laboratorio del Banco de Germoplasma Vegetal del Instituto de Ciencias Biológicas-UNICACH, para determinar morfometría de frutos y semillas; humedad, viabilidad y germinación de las semillas.



Figura 15. Planta de *Bromelia karatas* L. con frutos.

### 6.2 Pruebas básicas de calidad de semillas

En las semillas se hicieron las pruebas básicas de calidad (iniciales) que establecen las reglas de la International Seed Testing Association (ISTA, 2016): morfología, viabilidad, humedad y germinación.

#### 6.2.1 Morfometría de frutos y semillas de *Bromelia karatas* L.

Para la caracterización morfométrica se utilizaron seis muestras aleatorias de 100 frutos y semillas tomadas de un lote de 1000, donde se determinó de manera individual el ancho (se consideró como ancho al diámetro perpendicular) y largo de la semilla (considerado como el diámetro paralelo con respecto al eje del micrópilo en mm (Figura 16), mediante el uso de un vernier digital Caliper® con una precisión de

0.1 mm; por otro lado, las características de peso por fruto y semilla se midieron en g, con una balanza analítica Ohaus® con un grado de precisión de 0.001 g. se realizó un análisis de datos, obteniendo media, mínimos, máximos, varianza, rango, y desviación estándar.

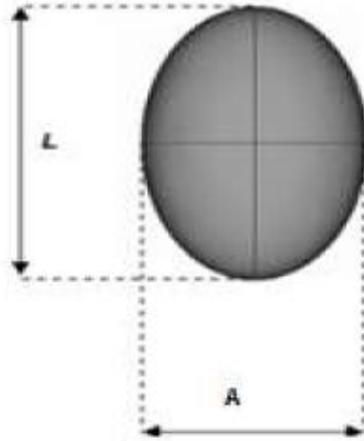


Figura 16. Ejes de medición para la determinación morfológica de los frutos y semillas: (L) largo y (A) ancho. (Jaramillo, 2004).

Con la ayuda de un estereoscopio Leica Zoom®, se determinó la morfología externa de las semillas.

### **6.2.2 Determinación de contenido de humedad de las semillas**

Para evaluar el porcentaje de humedad (%), se utilizaron aleatoriamente 1 g de semillas puras, con 10 repeticiones, las cuales fueron colocadas en un determinador de porcentaje de humedad Ohaus®, con una temperatura de  $101 \pm 2$  °C durante 10 minutos.

### **6.2.3 Determinación de porcentaje de viabilidad de la semilla**

Se tomaron al azar cuatro muestras de 25 semillas, las cuales fueron colocadas en agua destilada por 12 h para facilitar la eliminación de la testa. Con la ayuda de un bisturí se dividieron a la mitad con la finalidad de dejar el embrión expuesto y se le agregaron 10 gotas de 2,3,5 trifenil cloruro de tetrazolio diluido (1% p/v), posteriormente fueron cubiertas con papel aluminio, dejándolo reposar a temperatura ambiente por 12 h (Hartmann y Kester, 2001; Orantes-García *et al.*, 2007), una vez termina el reposo, se evaluó el patrón de tinción de las semillas bajo un microscopio

estereoscopio Leica Zoom®; considerando el número de semillas basado en el color adquirido por lo embriones, principalmente aquellos que presentaron un color rojo intenso (vigoroso), excluyendo a los que tenían un color ligeramente pálido o no tenían color, que se consideraron no viables o muertos. La fórmula que se utilizó fue la siguiente:

$$\% \text{ de viabilidad} = \frac{\text{Número de semillas coloreadas}}{\text{Número total de semillas}} \times 100$$

Las semillas se clasificaron en tres categorías y se realizaron los patrones topológicos, según el patrón de tinción de acuerdo a kameswara *et al* (2007):

- Semillas totalmente teñidas que son viables
- Semillas totalmente libres de coloración que son no viables
- Semillas parcialmente teñidas que producirán plántulas normales o anormales, dependiendo de la intensidad y patrón de la tinción.

#### 6.2.4 Prueba de germinación

De manera aleatoria, se realizó la prueba de germinación, utilizando tres tratamientos pregerminativos y testigo, con tres repeticiones de 30 semillas en cada uno de los tratamientos (4x3x30=360). Cada semilla fue considerada como una unidad experimental.

Los tratamientos pregerminativos a los que se sometieron las semillas fueron (Hartmann y Kester, 2001):

- a) **Escarificación química:** en un vaso de precipitado se agregó 150 ml de disolución de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) al 3% de concentración, durante 4 h, después fueron enjuagadas con agua para eliminar el exceso de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Dicha solución fue tomada el peróxido de hidrógeno al 30% marca Perhydrol Merck®.
- b) **Tratamiento hormonal:** las semillas fueron sumergidas en la solución de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) con una concentración de 1 g por litro, durante 12 h,

pasando el tiempo se colocaron en papel absorbente para retirar el exceso de la solución.

- c) **Hidratación (remojo en agua):** las semillas se colocaron en un vaso de precipitado con 300 ml de agua a temperatura ambiente ( $25\pm 1$  °C) durante un periodo de 24 h. posteriormente se colocaron en papel absorbente para retirar el exceso de agua.

Después de los tratamientos pregerminativos las semillas fueron colocadas a una profundidad de 2 cm con el micrópilo hacia abajo, en charolas de unicel para especies forestales tipo Koper block® (60 cm x 35 cm x 12 cm), con sustrato agrolita + tierra negra (1:2). Esta prueba tuvo una duración de 30 días, con una aplicación de riego y observación cada tres días. Se consideraron germinadas las semillas cuando presentaron emergencia de la planta sobre el sustrato (>5mm) (Hartmann y Kester, 2001).

El experimento se desarrolló en el vivero del Banco de Germoplasma Vegetal del instituto de Ciencias Biológicas-UNICAH, el cual cuenta con malla-sombra de 70% de cobertura, con temperatura de 26°C y humedad 78% (Pozo-Gómez *et al.*, 2019).

Mediante las siguientes fórmulas se determinó el porcentaje de germinación final y germinación acumulada (Hartmann y Kester, 2001):

Porcentaje de germinación final (GF): para determinar el efecto en la capacidad germinativa (es decir, la porción de semillas capaces de germinar en condiciones óptimas o en una condición determinada) (ISTA, 2003), se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% GF = \frac{\text{Número de semillas germinadas}}{\text{Número semillas sembradas}} \times 100$$

Germinación acumulada (GA): la germinación acumulada muestra la forma en que se incrementa la germinación y el tiempo (días) de inicio de la germinación

$$GA = \%n1 + \%n2 + \%n3 + \%nx / nx$$

Dónde

%n1= porcentaje de semillas que germinan el tiempo 1.

%n2= porcentaje de semillas que germinan el tiempo 2.

%nx= porcentaje de semillas que germinaron el último tiempo en que se presentó la germinación.

Porcentaje de germinación final (%G) para determinar el efecto del almacenamiento sobre la capacidad germinativa de las semillas

$$PG = (n_i / N) \times 100$$

### **6.3 Análisis de Datos**

Se comprobaron que los datos obtenidos de morfometría, viabilidad, humedad y germinación, cumplieran con los requisitos de normalidad, por medio de Shapiro Wilk, con los niveles de significancia de  $p \leq 0.05$ ; y la homogeneidad de varianza mediante la prueba Levene. Una vez que se comprobaron los datos se procedió a realizar un análisis de varianza (ANOVA). El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico R.3.2.4® y los gráficos fueron realizados en Statgraphics Centurión y Microsoft Excel®.

## VII. RESULTADOS

### 7.1 Morfometría

#### a) frutos

Los frutos de *Bromelia karatas* L. son de tipo baya, de consistencia fibrosa, tiene forma fusiforme, con una coloración blanca, combinado con rosa, es delgado en los extremos, sin embargo, se hace un poco más grueso en el centro del fruto, además se encuentran cubiertos de pequeños pelos urticantes de color café (Figura 17 a). En el interior presenta una pulpa agrídulce de color blanca de consistencia mucilaginososa, y está dividido en tres secciones en donde se encuentran tres hileras de semillas (Figura 17 b).

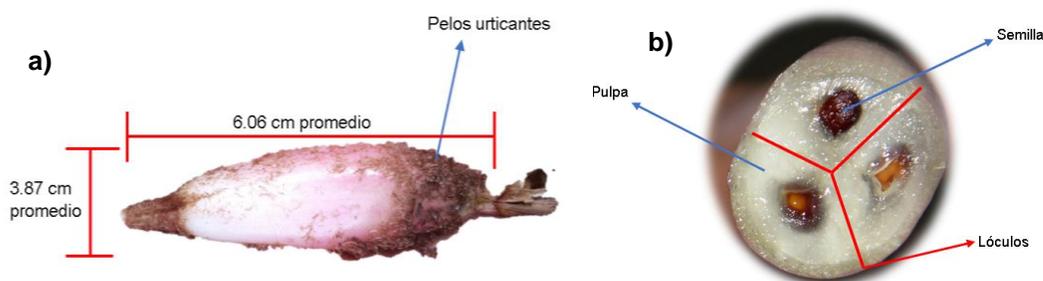


Figura 17. a) Frutos de *Bromelia karatas* L., b) parte interna del fruto, se observa las tres divisiones donde se encuentran las semillas.

Los frutos miden en promedio  $6.06 \pm 0.20$  cm de largo y  $3.87 \pm 0.04$  cm de ancho, el peso promedio fue  $12.67 \pm 1.33$  g. Cada fruto contiene  $29 \pm 5$  semillas en promedio (Cuadro 1).

Cuadro 3. Descripción de las características morfológicas de los frutos de *Bromelia karatas* L.

Variables	Largo (cm)	Ancho (cm)	Peso (g)	Número de semillas
Media	6.06	3.87	12.67	29
Desviación estándar	0.20	0.044	1.33	5
Varianza	0.039	0.0019	1.71	23.43
Mínimo	5.55	3.77	9.6	21
Máximo	6.3	3.95	15.5	42

## B) Semillas

Las semillas de *Bromelia karatas* L., presentan una forma oblonga, la testa presenta una coloración castaño oscuro o castaño claro, con una reflejabilidad lustrosa, de consistencia tipo coriácea, con una superficie rugosa, presenta un hilum conspicuo apical de color castaño oscuro, mientras que el micrópilo es inconspicuo de posición basal (Figura 18).

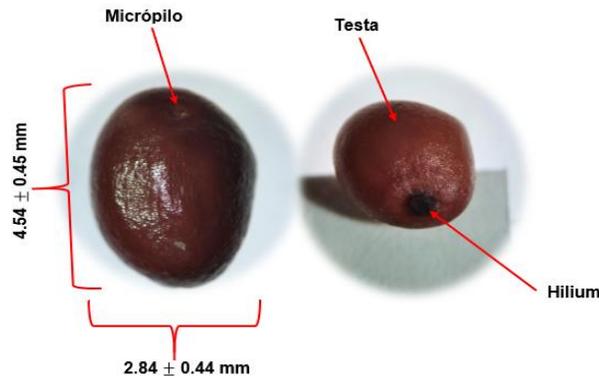


Figura 18. Morfología externa de las semillas de *Bromelia karatas* L. visto desde el microscopio estereoscópico

El endospermo de la semilla es abundante y uniforme con una coloración blanquecina de consistencia arenosa, rodeando al embrión completamente. El embrión se encuentra en la parte basal de forma rudimentaria con una coloración amarillenta, la radícula presenta una forma curva, y está dirigida hacia el micrópilo (Figura 19).

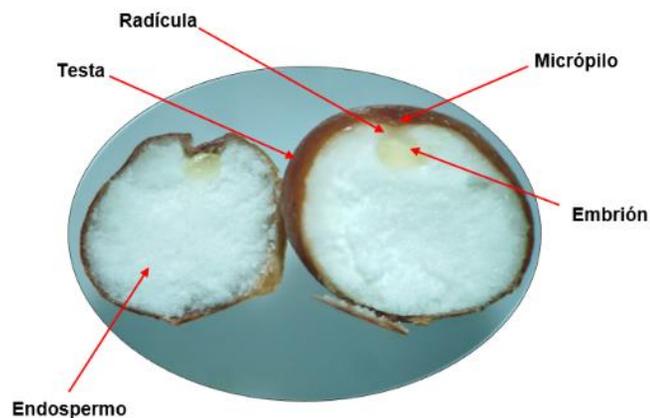


Figura 19. Morfología interna de las semillas de *Bromelia karatas* L., visto desde el microscopio estereoscópico

Las semillas de *B. karatas* L. presentan en promedio  $4.54 \pm 0.45$  mm de largo y  $2.84 \pm 0.43$  mm de ancho, y pueden llegar a pesar  $0.035 \pm 0.003$  g en promedio (Cuadro 2).

Cuadro 4. Descripción de las características morfológicas de las semillas de *Bromelia karatas* L.

Variables	Longitud (mm)	Ancho (mm)	Peso (g)
Media	4.54	2.84	0.0358
Desviación estándar	0.452	0.438	0.0034
Varianza	0.204	0.192	1.18E-05
Mínimo	2.28	1.69	0.0241
Máximo	5.66	5.33	0.0486

## 7.2 Viabilidad y humedad

De acuerdo a la prueba de viabilidad y humedad, las semillas recién recolectadas presentaron 63.3 % y 29.4 % respectivamente. Las semillas con 12 meses de almacenamiento tuvieron en promedio 50 % de viabilidad y 15 % de humedad. Se encontraron tres distintos patrones topológicos: a) semillas sin teñir, lo que representaba a las semillas sin viabilidad; b) Semillas levemente teñidas de color rosa representando a las semillas con una baja posibilidad de germinar y c) Semillas totalmente teñidas en color rojo, siendo este el caso de las semillas con buena viabilidad (Figura 20).

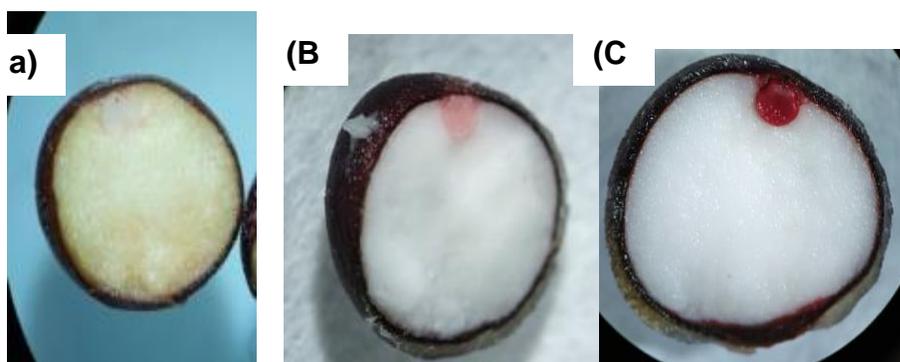


Figura 20. Patrón topológico en semillas de *Bromelia karatas* L; (A) semillas libres de coloración, (B) embrión parcialmente teñidas o levemente teñidas de rosa y (C) embrión totalmente teñidas de rojo intenso.

### 7.3 Pruebas de germinación

En la figura 21, se muestran los promedios de porcentaje de germinación final. Se observó bajo porcentaje de germinación en las semillas recién recolectadas, en comparación con las semillas que estuvieron 12 meses de almacenamiento. Hubo diferencias entre los tratamientos pregerminativos ( $p \leq 0.001$ ) y los tiempos de almacenamiento ( $p \leq 0.001$ ).

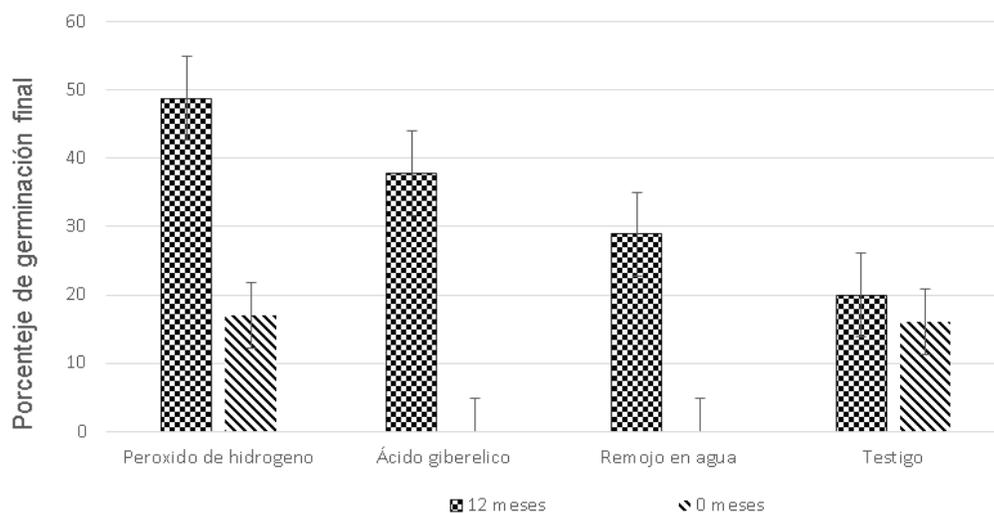


Figura 21. Comparación del porcentaje de germinación en semillas de *Bromelia karatas* L., recién recolectadas (0 meses) y con 12 meses de almacenamiento, sometidas bajo 4 tratamientos pregerminativos.

En semillas de *B. karatas* L. recién recolectadas (0 meses), con el tratamiento de peróxido de hidrogeno, inicio el proceso germinativo a partir de 84 días después de la siembra y se obtuvo 16% de germinación final, en el testigo las semillas iniciaron el proceso germinativo a los 72 días y logró 15% de germinación final, para los tratamientos pregerminativos de inmersión en ácido giberélico y agua no se logró germinación (0% respectivamente). En semillas con 12 meses de almacenamiento, el tratamiento pregerminativo con peróxido de hidrógeno fue el que obtuvo el máximo porcentaje final (49%) comparado con el testigo (20%) (Figura 22).

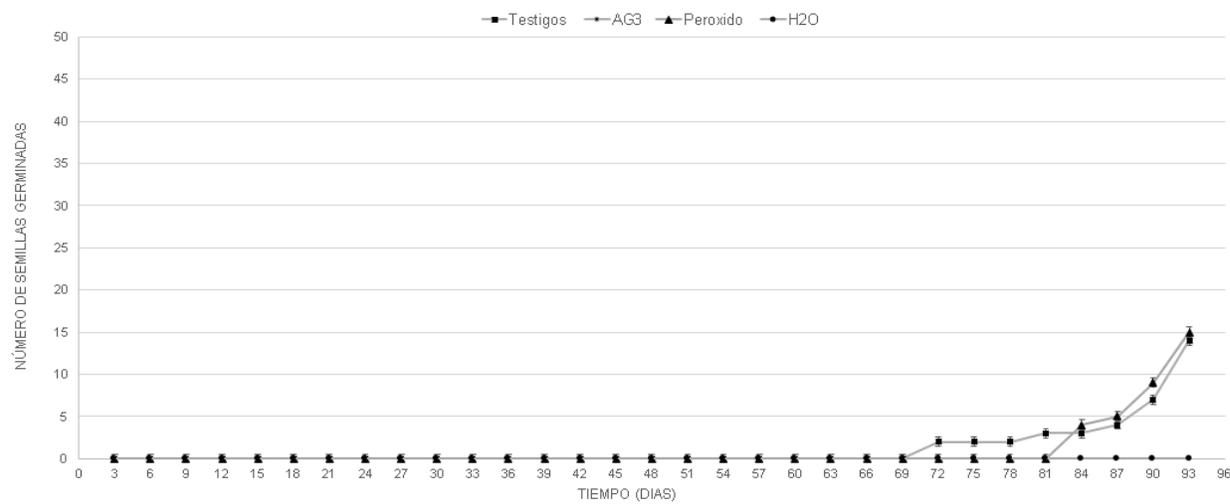


Figura 22. Germinación acumulada en semillas de *Bromelia karatas* L. con 0 meses de almacenamiento, bajo 4 tratamientos diferentes.

En la figura 23, se observa la germinación acumulada de los cuatro tratamientos pregerminativos que fueron sometidas las semillas de *B. karatas* L. Las semillas con 12 meses de almacenamiento inician el proceso germinativo a los 39 días en los tratamientos con peróxido y agua, siendo el mejor tratamiento comparado con el testigo que inicia a los 51 días.

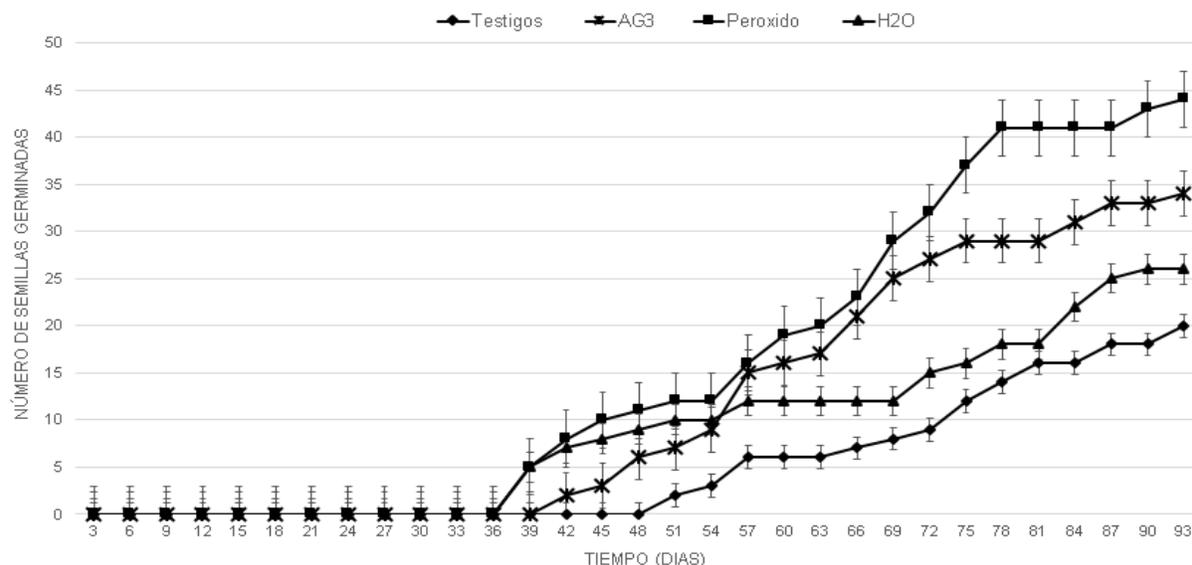


Figura 23. Germinación acumulada en semillas de *Bromelia karatas* L. con 12 meses de almacenamiento, bajo 4 tratamientos diferentes.

#### 7.4 Crecimiento y desarrollo de plántulas de *Bromelia karatas* L.

La germinación de las semillas de *B. karatas* L., es de tipo hipógea, ya que su cotiledón permanece enterrado, mientras las raíces atraviesan el sustrato y se dispersan en todas las direcciones, y el epicótilo se dirige hacia la superficie, sus raíces son consideradas de tipo homorrhizas, es decir que no presentan una raíz principal, y en las primeras etapas del crecimiento no suelen ser muy largas. Estas semillas a los 39 días surgen como una pequeña yema que varía de 3 a 4 mm, el cual da origen al epicótilo pasando 49 días después de su siembra, presentan una forma cilíndrica de color verde claro brillante, el cual media entre 7 a 9 mm, a los 51 días se observa un cambio significativo en la plúmula, para dar origen a la primer hoja basal, dicha plúmula presentó un tamaño de 17 mm de largo, en este momento se comienza a distinguir la primer hoja basal enrollada, cumpliendo los 56 días después de ser sembradas se logra ver la primer hoja basal desenrollada con un largo de 24 mm, así como también hay más raíces, pero sin ser muy largas, mientras que hasta el día 61 se puede observar más desarrollada la hoja basal, midió 49 mm de largo, dicha hoja es de color verde claro, con bordes lisos y de forma lanceolada, además presenta nervaduras paralelas, así como también se observa la aparición de una segunda hoja (Figura 17).

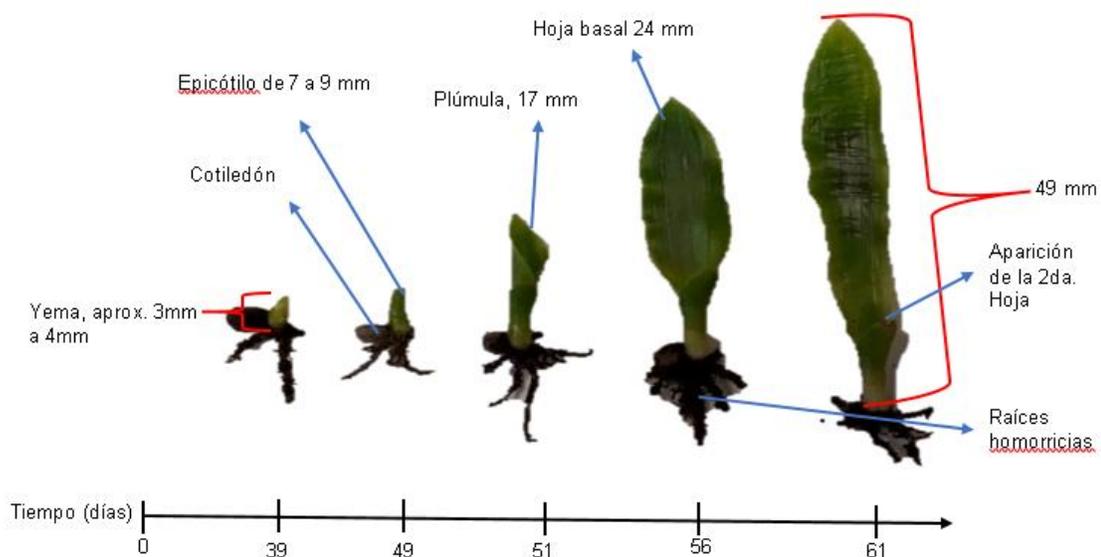


Figura 24. Germinación hipogea y ejemplo de crecimiento de la semilla de *Bromelia karatas* L. en un periodo de un mes.

## VIII. DISCUSIÓN

Montes *et al.* (2014), mencionan que *Bromelia karatas* L. es una planta con diversidad en forma y color de los frutos. Por otro lado, Zambrano (2012), en su investigación describe que el tamaño del fruto es muy variable dependiendo de diversos factores como el clima, calidad de suelo, exposición solar, por mencionar algunas. Espejo-Serna *et al.* (2005), reporta que los frutos de esta especie presentan forma elipsoide con un promedio de 5.5 cm de largo y 1.2 cm de diámetro, además estas son color rosados por fuera y color blanco por dentro, coincidiendo con lo antes descrito, en la investigación se obtuvieron los frutos de color rosa combinados con blanco por fuera y totalmente blanco por dentro, pero los frutos son de mayor tamaño presentando un promedio 6.06 cm de largo y 3.87 cm de ancho. Sin embargo, autores como Zúñiga y Caldón, (2008), observaron que los frutos en su estado de madurez pueden ser de color café oscuro o amarillento. Lidueña y Martelo (2018), señala que son de color café, fusiformes, estrechos en la parte basal y apical, pero más redondo en la parte central, presentando un tamaño aproximado de 10.31 cm de largo y 1.59 cm de ancho. Hornung-Leoni (2011); Villanueva-Alonzo *et al.* (2018), mencionan que los frutos de dicha especie son de color rojo por fuera y blanco por dentro, el último autor, reportó también encontrar frutos de color hueso-café y rosados claros. Aunque, Zambrano (2012), comenta que existe confusión respecto a estas características, este autor realizó un trabajo con la especie *Bromelia nidus-puellae* cuyos frutos son de color amarillo y suele confundirse con *Bromelia karatas* L. tanto que a veces se encuentran mezcladas. En cuanto al peso individual del fruto, Zúñiga y Caldón (2008), obtuvieron un promedio de 18.83 g, siendo más pesadas que lo encontrado en este trabajo ya que se obtuvo un promedio de 12.67 g. Wen y Hsiao (2001), mencionan que las variaciones tanto morfológicas y/o fisiológicas de una especie puede estar ligada a las condiciones ambientales.

Lidueña y Martelo (2018); Zúñiga y Caldón (2008), observaron que el número de semillas por fruto en promedio es de 69 y 77 semillas respectivamente, lo que es diferente a lo que se encontró en esta investigación, donde el promedio fue de 29 semillas. Lidueña y Martelo (2018), encontraron que las semillas en estado de

madurez son de color marrón con forma subglobosa y que pueden llegar a medir 4 mm de largo y 3.5 mm de ancho en promedio, mientras que Zúñiga y Caldón (2008), señalan que las semillas pueden llegar a presentar color café o negro. Autores como Espejo-Serna *et al.* (2005); Espejo-Serna, *et al.* (2010), encontraron que las semillas de esta especie son negras, subglobosas de 3 a 4 mm de diámetro. Cabe mencionar, que las semillas en este trabajo de investigación, tuvieron en promedio 4.54 mm de longitud y 2.84 mm de ancho. Es poca la información que se encuentra sobre la morfología interna de las semillas de esta especie, sin embargo, los autores Lidueña y Martelo (2018), encontraron que el endospermo es abundante y el embrión solo ocupa un 10% de la misma, lo que es muy similar a lo encontrado, tanto para el endospermo y el embrión.

Las semillas recién recolectadas de *B. karatas* L., presentaron 29.47% de humedad y 63.3 de viabilidad, lo cual disminuyó con el periodo de almacenamiento. Según la FAO (2019), la humedad es un factor crítico para determinar la viabilidad y longevidad de las semillas por lo que existen diferentes categorías de semillas, entre las que se encuentran las semillas ortodoxas, de larga vida, estas pueden secarse hasta un contenido de humedad del 5%, sin sufrir daño, también están las semillas recalcitrantes, estas son de corta duración, no pueden secarse a menos del 20% o 30%, sin perjuicio, por lo que no toleran almacenamientos prolongados. Entre los factores que influyen en la viabilidad de las semillas, se citan el tiempo de almacenamiento y condiciones de almacenamiento, y varía con el paso de los años, desde uno hasta más de 10 años, y no la pierden en forma repentina, sino que disminuye progresivamente a lo largo del tiempo (Valles; 2002).

Un estudio realizado por Sánchez-Arellano *et al.* (2011), con semillas de zámota (*Coursetia glandulosa*), observaron que esta semilla pierde su viabilidad a partir del segundo y tercer año de almacenamiento y después del tercer año ésta pérdida es total, por otro lado, Gómez-Hernández, (2019) que trabajó con la especie *Calophyllum brasiliense*, en su trabajo concluyó que la humedad y la viabilidad descendió a los 3 meses de almacenamiento teniendo 7.5% y 0% respectivamente. Y en el caso de Gutiérrez-González (2016), observó que las semillas de *Chamaedorea*

*glaucifolia*, disminuye el porcentaje de germinación, a los 120 días de ser almacenadas, lo que es contrario a lo que se observó en esta investigación ya que las semillas recién colectadas (cero meses) tuvieron altos porcentajes de humedad y viabilidad en comparación con las semillas con 12 meses de almacenamiento, sin embargo el porcentaje de germinación fue distinto ya que las de 0 meses fue de bajo porcentaje (16 %) mientras que las semillas con 12 meses de almacenamiento obtuvo un 49%. De acuerdo a estos resultados se puede considerar que el almacenamiento favorece la germinación de las semillas de *B. karatas* L. Lallana *et al.* (2005), menciona que algunas especies forestales obtienen mayor porcentaje de germinación con el almacenamiento de las semillas.

Los resultados de las pruebas de germinación en semillas de *B. karatas* L. con dos periodos diferentes de almacenamiento (0 y 12 meses) y sometidos a 4 tratamientos pregerminativos, se encontró que las semillas recién recolectadas (0 meses) tuvieron un porcentaje menor al 20 % (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 16%; AG<sup>3</sup> 0%; H<sub>2</sub>O 0% y testigo,15%), mientras que las semillas con 12 meses obtuvieron mayor porcentaje de germinación, sin embargo, estas no pasaron del 50% (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 49%; AG<sup>3</sup> 38%; H<sub>2</sub>O 29% y testigo,20%). Lidueña y Martelo (2018), sometieron las semillas de *B. karatas* L. a imbibición en agua destilada y a fotoperiodos de 12 h, obtuvieron 14% de germinación final a partir de los 28 días después de la siembra, mencionan que el bajo porcentaje de germinación puede estar relacionado con la presencia de lignina en el tegumento. Con respecto a los tratamientos pregerminativos, Merino-Valdés *et al.* (2018), quienes trabajaron con las semillas de *Capsicum pubescens*, encontraron un efecto favorable en el uso de peróxido de hidrógeno en dichas semillas, sin embargo, este no fue el del mayor porcentaje de germinación, esto puede deberse por la liberación de O<sub>2</sub> que acelera la respiración mitocondrial y las actividades metabólicas (Keatzman *et al.*, 2001).

Referente al desarrollo de la plántula es poca la información que se encuentra para esta especie, sin embargo, Lidueña y Martelo (2018), observaron el desarrollo post-seminal, mencionan que a los 28 días aparece la ruptura del tegumento dando aparición a la primera estructura, la vaina cotiledonar y la raíz primaria, a los 12 días,

surge la primer hoja de color verde y finalmente 16 días después de la primer hoja, se aprecia una segunda, en esta etapa lo consideraron como plántula formada, parecido a los resultados de esta investigación siendo que a los 39 días hizo su aparición la primera estructura como una pequeña yema de 3mm, la cual da lugar a la plúmula a los 10 días después (lo que ellos consideran como hojas), y a los 12 días después se observó el crecimiento de la plúmula, de color verde y con forma cilíndrica, que es donde estos autores lo consideran como una plántula formada, sin embargo en nuestro caso seguimos observando su desarrollo hasta completar los 90 días después de su germinación, siendo un aporte para futuras investigaciones.

## IX. CONCLUSIÓN

Los frutos de *B. karatas* L. son de tipo baya, de consistencia fibrosa, tiene forma fusiforme, de color rosa con blanco, delgado en los extremos y un poco más grueso en el centro del fruto, cubiertos de pelos pequeños urticantes de color café, el interior presenta una pulpa agridulce blanca de consistencia mucilaginosa, y está dividido en tres secciones en donde se encuentran tres hileras de semillas miden en promedio 6.06 cm de largo y 3.87 cm de ancho, el peso promedio fue 12.67 g, y cada fruto contiene 29 semillas en promedio.

Las semillas, se desarrollan en el interior de frutos, presentan una forma oblonga, con tamaño entre 1.0 mm hasta 5.0 mm de largo, la testa color castaño oscuro o castaño claro de consistencia tipo coriácea, con una superficie rugosa, el *hilium* es conspicuo apical, color castaño oscuro, y el micrópilo es inconspicuo de posición basal.

Las semillas recién recolectadas (0 meses) presentaron 63.33% de viabilidad y 29.47% de humedad, lo cual disminuyó de acuerdo con el periodo de almacenamiento, observándose un 50 % de viabilidad y 15 % de humedad después de que las semillas fueron sometidas a 12 meses de almacenamiento.

Se observa que el almacenamiento es un factor que favorece a la germinación de las semillas. Con el tratamiento de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) se obtuvo el mayor porcentaje de germinación final en ambos periodos de almacenamiento (16 % en semillas recién recolectadas y 49 % en semillas con 12 meses de almacenamiento).

## X. RECOMENDACIONES

Se recomienda hacer de estudios para la conservación de la especie en su área natural, su aprovechamiento y manejo, así como también conocer más acerca de la importancia ecológica y etnobiológica (ornamental, medicinal, comercial), con la finalidad de crear conciencia acerca de la importancia de esta especie.

Es recomendable realizar talleres de educación ambiental con las comunidades para evitar el impacto de las poblaciones silvestres de la especie, aunque no está considerada dentro de la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010), hay estudios donde se evalúa el impacto y la disminución de las poblaciones de *B. karatas* L.

Se recomienda realizar más investigaciones sobre su propagación asexual u otras formas (*in vitro*, estolón), que permitan conocer más acerca de su reproducción, y tener diferentes opciones de propagación para implementar el cultivo de la especie bajo un manejo sustentable.

## XI. REFERENCIAS DOCUMENTALES

- Albarrán-Mondragón, F. 2016. Establecimiento de cultivos *in vitro* de *Bromelia karatas* L. y su análisis fitoquímico preliminar. Maestría en Ciencias. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma del Estado de México. México D. F.
- Albarrán-Mondragón, F. J., Buendía-González, L., Orozco-Villafuerte, J. y Mulia-Rodríguez, J. 2015. Establecimiento de cultivo *in vitro* y germinación de *Bromelia karatas* L. (Timbiriche). XVI Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Guadalajara, Jalisco, México.
- Andrade, C. A. y Medina, H. A. E. 2013. Hypoglycemic effect of *Bromelia plumieri* (E. MORREN) L. B. Sm., leaves in STZ-NA-induced diabetic rats. Research. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Barceló, C. J., Nicolás, R. G., Sabater, G. R. y Sánchez, T. R. 2019. Fisiología Vegetal. Pirámide. Madrid, España.
- Betancur J. y García N. 2006. Las bromelias. En: García N. y Galeano G. (eds). Libro rojo de plantas de Colombia. Volumen 3: Las bromelias, las labiadas y las pasifloras. Serie Libro Rojo de Especies Amenazadas de Colombia, Instituto Alexander von Humboldt. Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad de Colombia. Bogotá, Colombia. Pp 51-384.
- Castro-Soto, G. 2010. Los impactos ecológicos en Chiapas. Otros mundos A. C. amigos de la tierra México. San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México.
- Doria J. 2010. Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos tropicales*. 31(1): 74-85.
- Espejo-Serna. A., López-Ferrari A. R. y Ramírez-Morrillo I. 2010. Bromeliaceae. Flora del bajo y de regiones adyacentes. Fascículo 165., de Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. México D. F.

- Espejo-Serna A., López-Ferrari A. R. y Ramírez-Morillo I. 2005. Flora de Veracruz. Bromeliaceae. Fascículo 136. Instituto de Ecología A. C. Xalapa, Veracruz, México.
- Espejo-Serna A., López-Ferrari A. R. *et al*, 2004. Checklist of Mexican Bromeliaceae with notes on species distribution and levels of endemism. *Selbyana* 25:33-86
- Espíndola D. C. 2004. Prácticas de biología de organismos multicelulares. Bogotá, Colombia: Pontificia Universidad Javeriana. 92 pp.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2019. Materiales para capacitación en semillas- Módulo 6: almacenamiento de semillas. Roma.
- Feistritzer W. P. 1985. Procesamiento de semillas de cereales y leguminosas de grano: directrices técnicas Número 21 de Colección FAO. Producción y protección vegetal. Roma: Food & Agriculture Org.
- Flores-Pacheco, J.A., Ramírez-James, M., Gutiérrez-Rugama, A., Flores-Pacheco, C. J. y Alemán, Y. 2015. Efecto de tratamiento pre-germinativo en la calidad de plántulas guapinol (*Hymenaea courbaril*). Universidad Nacional de Ingeniería. 29(2): 83-96.
- Gálvez R. 2003. Almacenamiento y conservación de semillas. En Navarro C., Iglesias S. S., Montávez R. S., *et al*. Material Vegetal de Reproducción: manejo, conservación y tratamiento. España: Consejería de Medio Ambiente. Pp 131-148.
- Giraldo, A. G. 2004. Manual para el establecimiento de pequeñas empresas de semillas PES. Ed. CIAT. Colombia.
- Gómez-Hernández, M. M. 2019. Viabilidad y geminación de *Calophyllum brasiliense* Cambess (*Calophyllaceae*), árbol tropical amenazado. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Chiapas, México.

- González-Rocha, E., Espejo-Serna, A., López-Ferrari, A. S. y Cerros-Tlatilpa, R. 2016. Las Bromeliaceae del estado de Morelos. Casa abierta al tiempo. Universidad Autónoma Metropolitana. México.
- González-Salvatierra, C., Andrade, J. L., Orellana, R., Peña-Rodríguez, L. M. y Reyes-García, C. 2013. Microambiente lumínico y morfología y fisiología foliar de *Bromelia karatas* L. (Bromeliaceae) en una selva baja caducifolia de Yucatán, México. *Botanical Sciences*, 91(1), 75-84.
- Gutiérrez-González, 2016. Estudio germinativo de *Chamaedorea glaucifolia* H. Wendl. (ARECACEAE), una especie en peligro de extinción en Chiapas, México. Tesis de Licenciatura. Instituto de Ciencias Biológicas. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Chiapas. México.
- Hernández, R. 2018. Características morfológica, molecular y bioquímica de hongos y bacterias asociadas a piñuela (*Bromelia karatas* L.) en los municipios de Patía y mercaderes Cauca. Magister en ciencia agrarias líneas de investigación de protección de cultivos. Facultad de Ciencias agropecuarias. Colombia.
- Hartmann, H. y Kester, E. D. 2001. Propagación de Plantas: principios y prácticas. CECSA. México. D. F.
- Hornung-Leoni. 2011. *Bromeliads: Traditional plant food in Latin America since prehispanic times*. *Polibotánica*, México, 23: 219-229.
- ISTA (International Seed Testing Association). 2003. International Rules for Seed Testing. Edition 2004. ISTA. Zürich. ISBN 3-906549, 38-40 pp.
- ISTA (International Seed Testing Association). 2016. Reglas internacionales para el análisis de las semillas 2016. Capítulos 1-7,9.
- Jaramillo, S. J. A. 2004. Biología. 2da edición. Editor MAD-Eduforma. España.
- Kameswara N., Hanson J., Dulloo, M.E., Ghosh, K., Nowell, D. y Larinde, M. 2017. Manual para el Manejo de Semillas en Bancos de Germoplasma (Manuales para Bancos de Germoplasma No. 8. Roma: Bioversity International.

- Keatzman, L. S., Taylor, A. G. y Langhans, R. W. 2001. Seed enhancements to improve spinach germination. *Hortscience*, 36(5): 979-981.
- Lallana, H., Elizalde, J. H. y García, L. F. (2005). Unidad temática 11: germinación y latencia de semillas y yemas. Catedra de Fisiología Vegetal-FCA-UNER. UT.
- Lidueña, P. K. I y Martelo, S. A. M. 2018. Morfoanatomía, Histoquímica y Desarrollo post-seminal de semillas de Bromelias (*Bromeliaceae*) presentes en el departamento de Sucre-Colombia. Facultad de Biología. Universidad de Sucre. Colombia.
- López-Galán. 2015. Morfometría geométrica: el estudio de la forma y su aplicación en biología., de Temas de Ciencia y Tecnología. 19(55): 53-59.
- Magaña, P. y Villaseñor, J. L. 2002. La Flora de México. Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal. 66: 24-26.
- Matilla A. J. 2008. Desarrollo y germinación se las semillas. En Azcón-Bieto y Talón M. (Eds.). Fundamentos de Fisiología Vegetal. Mc GRAW-HILL. Madrid. España. Pp. 537-558.
- Maza-Espinoza, L., Vivar-Vera, M. A., García-Magaña, M. L., Sáyago-Ayerdi, S. G., Chacón-López, A., Becerra-Verdín, E. M. y Montalvo-González, E. 2017. Enzyme activity and partial characterization of proteasas obtained from *Bromelia karastas* fruit and compared with *Bromelia pinguin* proteasas. *Food Sci Biotechnol*, 27(2): 509-517.
- Merino-Valdés, M., Andrés-Meza, P., Leyva-Ovalle, O. R., López-Sánchez, H., Murguía-González, J., Núñez-Pastrana, R., Cebada-Merino. M., Serna-Lagunes. R., Espinosa-Calderón, A., Tadeo-Robledo, M., Sierra-Macías M. y Rosario-Arellano, J. L. 2018. Influencia de tratamientos pregerminativos en semilla de chile manzano (*Capsicum pubescens* Ruiz & Pav.). *Acta Agromómica*. 64(4): 531-537.

- Millán, G. R., Cantero, C. B., Muñoz, R. M. y Cantero, C. F. 2004. Ayudantes Técnicos de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía. MAD-Eduforma. España.
- Mondragón, D.M., Ramírez-Morillo, I.M., Flores-Cruz, M. y García-Franco J.G. 2011. La familia Bromeliaceae en México. Universidad Autónoma de Chapingo 1: 13-100.
- Montejo. L., Sánchez J.A. y Muñoz. B. 2005. Tratamientos pregerminativos de escarificación ácida y de hidratación parcial en la germinación y el vigor de *Talipariti elatum*. Instituto de Ecología y Sistemática. Pastos y Forrajes. 2(28): 107-115.
- Montes R, Terán G, Zúñiga B. y Caldón P. 2014. Descripción morfológica de *bromelia karatas* L., recurso genético promisorio para patía, cauca, Colombia. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. 1(12);62-70
- Morales, J.F. 2003. Bromeliaceae. En, BE Hammel, M. Grayum, C. Herrera & N. Zamora (eds.) Manual de Plantas de Costa Rica. vol. II. Monogr. Syst. Larva del moscardón. Bot de Missouri. Gard. 92: 297-375.
- Orantes-García, C., Miceli-Méndez, C.L., Garrido-Ramírez, E. R., Velázquez-Méndez, A. M. y Moreno-Moreno, R. A. (2007). Cultivo y propagación de caoba, mujú y chicozapote. Colección Jaguar UNICACH. México.
- Piril-Gaitán, 2015. Efecto de la escarificación en semillas de dos genotipos de papaya, bajo condiciones protegidas. Tesis de Ingeniería. Facultad de Ciencias Ambientales y Agrícolas. Universidad Rafael Landívar. Guatemala.
- Pita-Villamil, J.M. y Pérez-García, F. 2001. Viabilidad, Vigor, Longevidad y conservación de semillas. Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. Madrid, España.

- Poulsen M. 2000. Análisis de semillas. En: Danida Forest Seed Centre. Técnicas para la escarificación de semillas forestales. CATIE. Turrialba, Costa Rica. Pp 23-25
- Recasens J. y Conesa J. A. 2009. Malas hierbas en plántula. Guía de identificación. Malas hierbas en plántula. Guía de identificación. Universidad de Lleida. España.
- Romero-Saritama y Pérez 2016. Rasgos morfológicos regenerativos en una comunidad de especies leñosas en un bosque seco tropical tumbesino. Revista de Biología tropical/ International Journal of Tropical Biology and Coservation 64:859-873.
- Salisbury F. y Ross 2000. Fisiología de las plantas. 1. Células: agua, solución y superficies. Paraninfo Thomson learning. España.
- Sánchez-Arellano, J. G., Parra-Galindo, M. A., Silvia-Olivas, M. F. y Pedroza-Pérez, D. (2011). Efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento sobre la viabilidad en semillas de zámota (*Coursetia glandulosa*, Gray); BIOtecnia/XIII 3: 36-40.
- Sánchez-Paz y Ramírez-Villalobos, 2006. Tratamientos pregerminativos en semillas de *Leucaena leucophala* (Lam) de Wit. y *Prosopis juliflora* (sw) DC. Revista de la Facultad de Agronomía. 3(23): 257-272.
- Secretaria de GBIF (2019). *Bromelia karatas*. <https://www.gbif.org>. consultado octubre 2020.
- Sierra P. 2005. Fundamentos para el establecimiento de pasturas y cultivos forrajeros. Universidad de Antioquia. Colombia.
- The International Plant Name Index Callaborators (IPNI), (2019). International Plant Names Index. Acceso a través de GBIF.org. consultado el 24 de enero de 2021
- Trópicos, 2017. Trópicos.org. Missouri Botnical Garden. <http://www.tropicos.org>. Consultado noviembre de 2020.

- Valles, J. M. 2002. Conservación de Semillas. Horturba, [www.horturba.com/castellano](http://www.horturba.com/castellano).
- Villanueva-Alonzo, H. J., Polanco-Hernández, G. M., Lizama-Uc, G., Acosta-Viana, K. Y. y Alvarado-Segura, A. A. 2018. Proteolytic activity of wild fruits of *Bromelia karatas* L. of Yucatán, México. Revista Chapingo Serie, Ciencias Forestales y del Ambiente, 25(2), 157-168.
- Villavicencio-Valenzuela, A. y Urbieta-Estudillo, M. L. 2010. Acala. Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México. Estado de Chiapas. <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM07chiapas/municipios/07002a.html>; consultado; octubre 2020.
- Wen, C. S. y Hsiao, J. Y. 2001. Altitudinal genetic differentiation and diversity of Taiwan Lily (*Lilium longiflorum* var. Formosanum; Liliaceae) using RAPD markers and morphological characters. Int. J. Plant Sci. 162(2): 287-295.
- Zambrano, M. 2012. Estudio de la identificación de la cadena productiva de piñuela (*Bromelia nidus-puellae* (André) André ex Mez) en los municipios del sur de los departamentos del valle del Cauca. Facultad de Ciencias de la Administración, Universidad del Valle. Colombia.
- Zúñiga, B. R. A. y Caldón, P. Y. 2008. Selección de materiales de piñuela (*Bromelia karatas*) para mejorar producción, calidad, y valor agregado del fruto como alternativa para contribuir a la seguridad alimentaria en el Patía. Tesis de ingeniería. Facultad de Ingeniería Agropecuaria. Universidad del Cauca. Colombia.