



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Establecimiento y supervivencia de plántulas reintroducidas de
Barkeria whartoni (Orchidaceae) en una región de bosque
tropical caducifolio del sur de México**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**B I Ó L O G A
P R E S E N T A:**

MIRNA KARINA PAREDES RAMÍREZ



DIRECTOR DE TESIS:

DR. EDUARDO ALBERTO PÉREZ GARCÍA

Ciudad Universitaria, CdMx, 2024



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Hoja de datos del jurado

1. Datos de la alumna

Paredes

Ramírez

Mirna Karina

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

420002309

2. Datos del asesor

Dr.

Eduardo Alberto

Pérez

García

3. Datos del sinodal 1

Dra.

Rosalinda

Tapia

López

4. Datos del sinodal 2

Dra.

Mariana

Hernández

Apolinar

5. Datos del sinodal 3

Dra.

María del Consuelo

Bonfil

Sanders

6. Datos del sinodal 4

Dr.

Edgar Javier

González

Liceaga

7. Datos del trabajo escrito

Establecimiento y supervivencia de plantines reintroducidos de *Barkeria whartoniana*
(Orchidaceae) en una región de bosque tropical caducifolio del sur de México

49 pp

2024

Agradecimientos a título académico

Al DGAPA-UNAM (PAPIIT IN227319) por el apoyo financiero a este proyecto.

A Laura Patricia Olguín Santos por su asistencia para el desarrollo de los cultivos *in vitro* en el laboratorio del Invernadero de la Facultad de Ciencias.

A Marco Antonio Romero Romero del Departamento de Ecología y Diversidad Vegetal por su apoyo técnico durante todo el proyecto.

A Edgar Javier González Liceaga del Departamento de Ecología y Recursos Naturales por su asistencia en la elaboración de modelos matemático para el análisis estadístico.

A los profesores del Taller de Investigación Ecológica en Poblaciones y Comunidades: Carlos Martorell Delgado, María del Consuelo Bonfil Sanders, Edgar Javier González Liceaga, José Jaime Zúñiga Vega, Jorge Arturo Meave del Castillo y Eduardo Alberto Pérez García cuyas observaciones durante el desarrollo de este trabajo fueron de gran utilidad.

A mi asesor Eduardo Alberto Pérez García por la dirección de este trabajo y por todo el apoyo académico y emocional brindado.

A la familia Reyes-Manuel y a todos los residentes de Nizanda por todas las facilidades y la hospitalidad brindada durante el trabajo de campo.

A todo el equipo del Orquideario Miguel Ángel Soto de la Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México (Orquideario MÁS-FC-UNAM) por proporcionar el material para este proyecto. Especialmente a Jimena Itzel García Nateras por su trabajo en el laboratorio para la obtención de los cultivos *in vitro* y a Cekouat Elim León Peralta por su ayuda durante el trabajo de campo y por proporcionar algunas de las fotografías aquí presentadas.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la comunidad de la Facultad de Ciencias por formarme académicamente.

Agradecimientos a título personal

*I was 17 then. I was thinking about how I could get to a better place. Become a better person.
That was the summer of my second year of high school.*

A mis padres Alicia y César porque a pesar de la distancia siempre sentí su apoyo incondicional, sin el cual no hubiera podido lograr esto.

A mi hermana Violeta por acompañarme durante los primeros años de la carrera, por mudarse conmigo y por ser una gran confidente.

A mis amistades y mentores del Orquideario MÁS-FC-UNAM Jimena Itzel García Nateras y Cekouat Elim León Peralta quienes me enseñaron a trabajar con orquídeas tanto en el laboratorio como en campo.

A mi amiga Fernanda Rojas por ser el mejor apoyo que pude encontrar en la universidad. Disfruté mucho compartir clases y prácticas de campo con un ser tan maravilloso. Gracias por enseñarme a tejer, por invitarme al curso de meditación y por compartir todo lo que tenemos en común (el autismo).

A Erikku (mi mejor amiga), a Rodrigo y a Carlos por convertirse en mi familia de la CDMX. Gracias por adoptarme. Nunca olvidaré las noches de pijamadas y los días de *home office*, las fiestas de departamento, los juegos de mesa y todo el amor que compartimos y seguiremos compartiendo.

A mis amistades y mi familia porque siempre me acompañaron

¿Cómo puedo comenzar para compensar esto?

¿Cómo puedo convertirme en alguien que merezca a estas personas?

ÍNDICE

Resumen	9
Abstract	10
Introducción	
○ <i>La familia Orchidaceae; hábito epífita y su problemática</i>	11
○ <i>Ambientes marginales para las orquídeas epífitas</i>	11
○ <i>Microendemismo</i>	13
○ <i>La familia Orchidaceae como grupo vulnerable</i>	13
○ <i>La reintroducción como estrategia para la conservación de orquídeas</i>	14
Antecedentes	17
Objetivos	
○ <i>Objetivo general</i>	19
○ <i>Objetivos específicos</i>	19
Hipótesis y pregunta de investigación	19
Materiales y métodos	
○ <i>Especie de estudio</i>	20
○ <i>Proceso de endurecimiento</i>	23
○ <i>Sitio de estudio</i>	23
○ <i>Método de reintroducción</i>	23
○ <i>Métodos estadísticos</i>	27

▪ <i>Análisis del experimento de reintroducción actual</i>	27
▪ <i>Comparación del experimento de reintroducción de Segovia et al. (2018) con el experimento de reintroducción actual</i>	28
Resultados	
○ <i>Análisis del experimento de reintroducción actual</i>	29
○ <i>Comparación del experimento de reintroducción de Segovia et al. (2018) con el experimento de reintroducción actual</i>	34
Discusión	36
○ <i>Aspectos del sitio de estudio</i>	39
○ <i>Consideraciones finales</i>	40
Literatura citada	42

Resumen

La reintroducción de especies es una estrategia de conservación que se basa en la incorporación asistida de individuos (i.e. plantines) al medio silvestre, los cuales idealmente se desarrollan inicialmente *ex situ*. No obstante, los ensayos realizados para la reintroducción de orquídeas epífitas no han sido muy exitosos, debido a que la supervivencia a largo plazo de los plantines ha sido relativamente baja. En una región con clima tropical estacionalmente seco, Segovia-Rivas y colaboradores (2018) realizaron un experimento de reintroducción de la orquídea microendémica epífita *Barkeria whartoni*; debido a la baja supervivencia que obtuvieron y con la finalidad de incrementar la supervivencia en futuros ensayos de reintroducción, los autores plantearon recomendaciones. En este trabajo se tomaron en cuenta algunas de estas recomendaciones para implementar cambios en el protocolo de reintroducción de plantines de *B. whartoni* (i.e. endurecimiento de los individuos previo a la reintroducción y el cambio del musgo *Sphagnum* por un trozo de toalla de papel de cocina) con la finalidad de aumentar el éxito del ensayo y comparar los resultados obtenidos en este trabajo con los obtenidos por dichos autores. Un total de 112 plantines fueron reintroducidos a campo a finales de julio del 2022. Se llevaron a cabo monitoreos *in situ* al final de la temporada de lluvias y después de la temporada de seca, en los que se evaluó la supervivencia, el establecimiento y el incremento en el número de brotes. En este experimento de reintroducción se obtuvo una supervivencia cuatro veces mayor (83 % vs 20 %) que la reportada por Segovia-Rivas y colaboradores (2018). La mayor mortalidad se presentó durante el periodo de endurecimiento (44.5 %). La temporada seca no tuvo un efecto negativo en la supervivencia de los plantines. Los buenos resultados obtenidos en este trabajo pueden adjudicarse a los cambios en el protocolo y al vigor de los plantines reintroducidos. La optimización de los protocolos de reintroducción podría mejorar sustancialmente la supervivencia inicial después del trasplante, periodo en el que consistentemente se presenta mayor mortalidad.

Abstract

The reintroduction of species is a conservation strategy based on the assisted incorporation of individuals (i.e., plantlets) into the wild, which are ideally initially developed ex-situ. However, attempts to reintroduce epiphytic orchids have not been remarkably successful, as the long-term survival of plantlets has been relatively low. In a region with a seasonally dry tropical climate, Segovia-Rivas *et al.* (2018) conducted a reintroduction experiment of the micro-endemic epiphytic orchid *Barkeria whartonia*. Due to the low survival rate they obtained and with the intention of increasing survival in future reintroduction attempts, the authors proposed several recommendations. This study took into account some of these recommendations to implement changes in the reintroduction protocol for *B. whartonia* plantlets (i.e., hardening the individuals before reintroduction and replacing Sphagnum moss with a piece of kitchen paper towel) to increase the success of the experiment and compare the results obtained in this study with those reported by the authors mentioned above. A total of 112 plantlets were reintroduced into the field at the end of July 2022. In situ monitoring was carried out at the end of the rainy season and after the dry season, evaluating survival, establishment, and increase in the number of shoots. In this reintroduction experiment, survival was four times higher (83% vs. 20%) than Segovia-Rivas *et al.* (2018) reported. The highest mortality occurred during the hardening period (44.5%). The dry season did not have a negative effect on the survival of the plantlets. The better results obtained in this study can be attributed to changes in the protocol and the vigor of the reintroduced plantlets. Optimizing reintroduction protocols could substantially improve initial post-transplant survival, the period during which the highest mortality consistently occurs.

Introducción

La familia Orchidaceae; hábito epífita y su problemática

Con alrededor de 25,000 especies, la familia Orchidaceae es una de las más diversas en el mundo (Dressler, 1993). En México existen aproximadamente 1,300 especies de orquídeas, de las cuales 40 % son endémicas (Hágsater *et al.*, 2015). Debido a la destrucción de sus hábitats y su extracción por su valor ornamental, 205 especies están clasificadas en alguna categoría de protección en la modificación de 2019 de la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2019).

La mayoría de las especies de la familia Orchidaceae en México son epífitas (Hágsater *et al.*, 2015). Un ambiente epífita puede ser ventajoso para los individuos, ya que tienen mayor disponibilidad de luz, una mejor exposición a los polinizadores y una menor herbivoría; a pesar de esto y debido al sustrato en el que crecen, estas plantas también se enfrentan a limitaciones de nutrientes y agua (Benzing, 2008). El hábito epífita involucra la presencia de un microclima que tienen un conjunto de condiciones atmosféricas particulares que difieren del área circundante. El microclima no solo considera los valores de temperatura y humedad, sino que integra a los componentes que alteran a estas variables (Parker, 1995). Las copas de los árboles modifican los valores promedio de la temperatura y la humedad relativa, al interactuar con otros componentes como el viento y la radiación solar; debido a esto las plantas epífitas se enfrentan a rápidos cambios en las condiciones climáticas (Nadkarni *et al.*, 2004).

Ambientes marginales para las orquídeas epífitas

La humedad ambiental y el gradiente altitudinal son características ambientales que están relacionadas entre sí y que al variar influyen en los patrones de distribución de las plantas epífitas (Gentry y Dodson, 1987). En ambientes muy húmedos las limitaciones de agua no son tan intensas y por ello existe una mayor diversidad y abundancia de orquídeas epífitas; en contraste, en los ambientes más secos tanto su abundancia como su diversidad se ven reducidas (Zimmerman y Olmsted, 1992). También se ha observado un decrecimiento en la riqueza de epífitas en ambientes con estacionalidad marcada (Kreft *et al.*, 2004).

Generalmente las plantas epífitas tienden a estar mejor representadas en las elevaciones intermedias donde se encuentran los bosques de neblina (Gentry y Dodson, 1987). La temperatura disminuye cuando aumenta la elevación, ya que al ascender disminuye la presión creada por la capa de aire y los gases al perder presión pierden temperatura (enfriamiento adiabático del aire); el gradiente vertical de temperatura es de -0.65°C por cada 100 m aumentados en elevación (Ledesma, 2011).

La humedad relativa es el cociente de la cantidad de vapor de agua contenida en una masa de aire entre la cantidad máxima de vapor de agua que puede ser mantenida en esa masa de aire a cierta temperatura (McIlveen, 1992); se representa en porcentaje, alcanzado la saturación al 100 %, cuando el agua se precipita. La temperatura puede modificar la humedad relativa, ya que un cambio de temperatura altera la capacidad máxima de la masa de aire para contener vapor de agua; entonces, cuando disminuye la temperatura aumentará la humedad relativa debido a que disminuye la capacidad de la masa de aire para contener vapor de agua, de la misma forma si aumenta la temperatura disminuye la humedad relativa (McIlveen, 1992). Al alcanzar la saturación, el agua se condensa en forma de lluvias o rocío matutino, que es importante para las orquídeas epífitas al proveerles del agua necesaria en este ambiente.

Los bosques caducifolios tropicales estacionalmente secos pueden considerarse ambientes marginales para las orquídeas epífitas, que tienen una distribución irregular y son escasas en este tipo de vegetación (Segovia-Rivas *et al.*, 2018). La tasa de extinción actual de especies de orquídeas mexicanas es de 1.75 % anual y aumenta a 2.71 % al incluir a las especies probablemente extintas; es decir, aquellas que ya no se han observado ejemplares en su hábitat (Soto-Arenas *et al.*, 2015). Dos aspectos comunes que suelen tener las especies extintas y las probablemente extintas ha sido el hábito de crecimiento epífito y estrictas preferencias de hábitat, por lo general con una distribución extralimital (Soto-Arenas *et al.*, 2015). Por lo tanto, la extinción de orquídeas mexicanas es un evento importante en hábitats marginales (o de poca extensión) sensibles a los efectos del cambio climático (Soto-Arenas *et al.*, 2015).

Microendemismo

El intervalo de distribución de una especie está limitado en parte por factores específicos del ambiente, en conjunto con otros factores, como la dispersión y las interacciones biológicas. A gran escala las distribuciones de las plantas están fuertemente correlacionadas con las tolerancias fisiológicas a distintos factores abióticos, como el clima, los suelos, la geología, los ciclos hidrológicos y biogeoquímicos (Maschinsk *et al.*, 2012).

El término microendemismo designa a especies con un área de distribución muy limitada, generalmente acompañada de una estrecha especificidad al hábitat y tamaños poblacionales pequeños (Rabinowitz, 1981). El microclima es un factor que puede incentivar al microendemismo, especialmente cuando se trata de un hábito epífita, ya que no solo incluye a las variaciones de temperatura y humedad, sino que también incorpora características como la radiación luminosa, la humedad relativa, la velocidad del viento y características sustanciales de los forofitos, como el tipo de corteza, el pH o la posición de la planta en el forofito (Zimmerman y Olmsted, 1992; Migenis y Ackerman, 1993; Fitzjarrald *et al.*, 1995).

Las especies de orquídeas que presentan esta asociación tan estrecha con hábitats particulares son un reto para la conservación, especialmente porque estos factores intrínsecos de las especies pueden actuar en conjunto con las presiones antropogénicas como la fragmentación, la destrucción del hábitat y el aumento de la temperatura global, resultando en la pérdida de sus poblaciones (Sosa y Platas, 1998; Hopper, 2000; Coats y Dixon, 2007; Soto-Arenas *et al.*, 2015).

La familia Orchidaceae como grupo vulnerable

Las asociaciones ecológicas de las orquídeas con otros organismos hacen que el establecimiento sea una de las etapas del ciclo de vida más crucial para la supervivencia (Hernández-Apolinar *et al.*, 2012; Raventós *et al.*, 2015). Primeramente, la polinización y la fecundación son eventos poco probables, ya que para que una planta pueda ser fecundada todo el contenido del polinio debe ser depositado por el polinizador en el estigma (Bronstein *et al.*, 2014; Rasmussen *et al.*, 2015). Adicionalmente, algunas especies de orquídeas tienen polinizadores muy específicos, los cuales son clave para su supervivencia. Posteriormente,

la semilla debe ser dispersada por el aire y caer en un forofito adecuado. Por último, debido a que sus semillas carecen de endospermo, necesitan encontrarse con un hongo micorrízico (muchas veces específico para la especie) para poder germinar (Bronstein *et al.*, 2014; Rasmussen *et al.*, 2015).

Debido a su alto grado de endemismo geográfico, a factores endógenos que limitan su tamaño poblacional (tasas lentas de crecimiento, ciclos de vida largos y dispersión aleatoria de semillas) y a su fuerte dependencia de asociaciones ecológicas con otros organismos, particularmente de sus polinizadores, hongos micorrízicos y otras plantas (epifitismos), las orquídeas son un grupo vulnerable con necesidad de esfuerzos de conservación (Dearnaley *et al.*, 2012; Walker *et al.*, 2013; Mondragón *et al.*, 2015).

La reintroducción como estrategia para la conservación de orquídeas

La Estrategia Global para la Conservación de las Plantas 2011-2020 impulsó un esfuerzo global para detener la extinción de especies, procurando asegurar colecciones *ex situ* para la mayoría de las plantas amenazadas, con el objetivo de proporcionar material para futuros programas de recuperación y restauración. Sin embargo, si el material de estas colecciones *ex situ* no se emplea como insumo en programas de reintroducción y en conjunto con la protección del hábitat *in situ*, se logrará poco para combatir la extinción de especies (Guerrant 2012, 2013; Reiter *et al.*, 2016).

Las poblaciones de muchas especies de orquídeas están en declive o bajo amenaza de extinción debido a la destrucción de sus hábitats y a la colecta insostenible; también se cree que son particularmente sensibles al cambio climático, debido a sus complejas historias de vida (Duncan *et al.*, 2005; Soto-Arenas *et al.*, 2007; Fay, 2018). Por ello, se hace cada vez más necesario buscar estrategias que permitan preservar a las especies, particularmente las que se encuentran en riesgo. La reintroducción de especies es una estrategia de conservación que se basa en la incorporación asistida de individuos al medio silvestre, los cuales idealmente se desarrollan inicialmente *ex situ* y después se transportan al hábitat original (Dixon y Phillips, 2007; Yam *et al.*, 2011; Reiter *et al.*, 2016). Este tipo de esquemas de reintroducción pueden ser muy útiles para la conservación de orquídeas, ya que mediante técnicas de cultivo de tejidos vegetales es posible obtener miles de plantas, denominadas

plantines, a partir de un sólo fruto (Hopper, 1998; Ramsay y Dixon, 2003; Swarts y Dixon, 2009). La obtención de plantines por esta vía y su reintroducción al campo implica la superación de algunos de los cuellos de botella que limitan el crecimiento poblacional de las orquídeas epífitas, como la dispersión azarosa de las semillas, la germinación simbiótica y el establecimiento de nuevos individuos (Hernández-Apolinar *et al.*, 2012; Bronstein *et al.*, 2014; Raventós *et al.*, 2015).

No obstante, los ensayos realizados para reintroducir orquídeas epífitas no han sido muy exitosos, debido a que la supervivencia a largo plazo de los plantines ha sido relativamente baja (Zettler *et al.*, 2007; Parthibhan *et al.*, 2015; Reiter *et al.*, 2016). La baja supervivencia se explica porque el ambiente epífito tiene varios factores que limitan el desarrollo vegetal, como una escasa o nula presencia de suelo (sustratos con poca retención de agua y nutrientes), mayor desecación por el efecto del viento y exposición a la radiación solar (Laube y Zotz, 2003; Benzing, 2008; Hirata *et al.*, 2009; Mondragón *et al.*, 2015). Además, se debe considerar que existen factores locales que también pueden afectar el éxito de la reintroducción de los plantines, como la topografía, la orientación de la ladera, la cercanía a cuerpos de agua, las corrientes de viento predominantes, la estacionalidad de los ambientes, así como la especie y grado del desarrollo del forofito, etc. (Chen *et al.*, 1993; Kreft *et al.*, 2004; Hirata *et al.*, 2009; Guerrant 2012; Salas-Morales *et al.*, 2015).

Otro factor que limita la supervivencia de las plantas reintroducidas es que las poblaciones reintroducidas son más sensibles que las poblaciones silvestres a factores, como la humedad relativa y la temperatura, que son más variables en los hábitats naturales que en condiciones de cultivo (Janissen *et al.*, 2021). Adicionalmente, las condiciones bióticas y abióticas controladas durante el cultivo *in vitro* comúnmente resultan en plantines con bajas tasas de fotosíntesis, mal funcionamiento de los estomas y reducción de la cera epicuticular en las hojas, causando altas tasas de mortalidad. El endurecimiento de los plantines cultivados *in vitro* es un proceso necesario para que adquieran la habilidad de tolerar las condiciones adversas que existen en los ambientes naturales (Teixeira da Silva, 2017).

Sin embargo, las condiciones microambientales del forofito que limitan el desarrollo vegetal de las plantas epífitas hacen difícil el establecimiento de los plantines reintroducidos aun cuando fueron endurecidos previamente (Parthibhan *et al.*, 2015; Emeterio-Lara y

Damon, 2024). En el cultivo de orquídeas epífitas se agregan al sustrato materiales que tienen capacidad de absorber agua, una gran permeabilidad y aeración moderada (mejoradores del sustrato; e.g., musgo *Sphagnum*) para aumentar la supervivencia y el crecimiento de los plantines (Teixeira da Silva, 2017; Nuammee *et al.*, 2024). Estos mismos pueden ser utilizados en los ensayos de reintroducción de orquídeas epífitas para aumentar las probabilidades de supervivencia y establecimiento de los plantines y con ello lograr, en un lapso medio a largo, la restauración de la población de la especie de interés.

Antecedentes

En una región con clima tropical estacionalmente seco, Segovia-Rivas y colaboradores (2018) realizaron un experimento de reintroducción de la orquídea epífita microendémica *Barkeria whartonia* (C. Schweinf.) Soto Arenas. Los autores obtuvieron una supervivencia baja (cerca al 20 %), habiendo muerto la gran mayoría de los plantines durante los primeros meses del ensayo. A partir de estos resultados, y con la finalidad de incrementar la supervivencia en futuros ensayos de reintroducción, los autores plantearon las siguientes recomendaciones: (1) usar individuos más grandes, preferentemente con un sistema de raíces más desarrollado; (2) endurecer a los individuos antes de la reintroducción; (3) realizar la reintroducción durante la temporada de lluvias y regar las plantas si las lluvias son escasas; (4) colocar los ejemplares reintroducidos cerca de individuos previamente establecidos naturalmente, ya que estos proporcionan evidencia de condiciones microambientales adecuadas en el lugar; y (5) extender la reintroducción de las plantas a lo largo de varios años para hacer frente a la variación interanual en la precipitación.

Las recomendaciones planteadas por dichos autores para *Barkeria whartonia* parten de considerar que las regiones con climas tropicales estacionalmente secos son un hábitat marginal para las orquídeas epífitas, y por ello tienen una distribución irregular y escasa de este tipo de plantas (Segovia-Rivas *et al.*, 2018). Muy probablemente las orquídeas epífitas de estos ambientes marginales sean muy susceptibles al cambio climático global, ya que el aumento de la temperatura y la consecuente disminución de la humedad ambiental podrían mover el umbral de tolerancia con mayor probabilidad que en ambientes más húmedos. Por ello, se hace necesario redoblar esfuerzos para buscar mejores resultados en los ensayos de reintroducción en estos ambientes, particularmente de especies endémicas con áreas de distribución reducida. En este nuevo ensayo de reintroducción se planteó como hipótesis de trabajo que la implementación de algunos cambios en el método de reintroducción de *Barkeria whartonia* podrían aumentar el éxito del ensayo, particularmente si se introducen plantines más endurecidos y cambiando el “mejorador” del sustrato. En el ensayo pasado (Segovia-Rivas *et al.* 2018) se colocó un poco de musgo *Sphagnum* en la base de cada individuo reintroducido para mejorar el sustrato de siembra en campo y con ello ayudar a mantener la humedad en las raíces. En este nuevo ensayo, el musgo

se sustituyó por fragmentos de toallas de papel de cocina, material que ha mostrado ser un excelente sustrato en la aclimatización de plantines de varias especies de *Barkeria* (A. Black, com. pers; E. A. Pérez-García, obs. pers.). A partir de estos cambios, en este ensayo de reintroducción evaluamos la supervivencia, el establecimiento y el crecimiento de plantines de *B. whartonia* en una región del sur de México, para luego comparar estos resultados con los obtenidos por Segovia-Rivas y colaboradores (2018).

Objetivos

Objetivo general

Reintroducir plantines de *Barkeria whartonia* siguiendo algunas de las recomendaciones hechas por Segovia-Rivas y colaboradores (2018), (endurecimiento de los individuos previo a la reintroducción y el cambio del musgo *Sphagnum* por un trozo de toalla de papel de cocina), con la finalidad de aumentar su probabilidad de sobrevivir y establecerse, y con ello lograr un mayor éxito en su reintroducción.

Objetivos específicos

- Evaluar la supervivencia de plantines de *Barkeria whartonia* después de un período de endurecimiento en condiciones de cultivo.
- Analizar la supervivencia, el establecimiento y el crecimiento (incremento del número de brotes) de plantines reintroducidos de *Barkeria whartonia* en dos sitios con elevaciones contrastantes en la región de Nizanda, Oaxaca, México.
- Comparar los resultados de este ensayo de reintroducción con los obtenidos por Segovia-Rivas y colaboradores en 2018.

Hipótesis y pregunta de investigación

En esta investigación se planteó como pregunta de investigación si es posible aumentar la tasa de éxito en la reintroducción de *Barkeria whartonia* siguiendo las recomendaciones de Segovia-Rivas y colaboradores (2018). Se hipotetizó que es posible aumentar el éxito en la reintroducción de *B. whartonia* si se atienden a algunas de estas recomendaciones, particularmente si se introducen plantines con más tiempo de endurecimiento, y utilizando un fragmento de toalla de papel de cocina en lugar de musgo *Sphagnum*.

Materiales y métodos

Especie de estudio

Barkeria whartonia es una orquídea epífita y litófito, con flores pequeñas (19-36 mm) de color lila, con la columna separada del labelo; posee hojas simples deciduas y sus raíces están cubiertas por velamen (Soto-Arenas *et al.*, 2007; Pérez-García, 2013; Fig. 1). Es una especie microendémica de la región de Nizanda, en la porción sur del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, México. *Barkeria whartonia* es especialista del ecotono entre la selva baja caducifolia y el matorral xerófilo que se desarrollan en afloramientos de roca caliza, en elevaciones entre 200 y 450 m s.n.m. (Pérez-García, 2013). Crece preferentemente sobre algunos forofitos como *Comocladia engleriana* Loes., *Plumeria rubra* L. y *Neobuxbaumia scoparia* (Poselg.) Backeb. (Segovia-Rivas *et al.*, 2018; Fig. 2). Está catalogada como una especie sujeta a Protección Especial según la Norma Oficial Mexicana 059 (SEMARNAT, 2019), debido a que tiene un tamaño poblacional pequeño y su área de distribución es muy reducida y está siendo reducida por las actividades humanas.

Para obtener los plantines para su reintroducción se fecundaron flores de *Barkeria whartonia* cultivadas en el Orquideario Miguel Ángel Soto de la Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México (Orquideario MÁS-FC-UNAM). A partir de una de las cápsulas se obtuvieron semillas que fueron germinadas en condiciones *in vitro* (a principios de 2020), en medio Murashige Skoog (MS, 1962). En septiembre de 2020, los plantines se sacaron de los frascos y se aclimatizaron; posteriormente se mantuvieron en el Orquideario MÁS-FC-UNAM durante dos años, con riego diarios y fertilización foliar frecuente.



Figura 1. Flores de *Barkeria whartoniiana*. Fotografía de E. Pérez-García.



Figura 2. Ejemplares de *Barkeria whartonia* establecidos naturalmente en Nizanda, Oaxaca, México. Fotografías de C.E. León-Peralta y M. Paredes-Ramírez.

Proceso de endurecimiento

A inicios de mayo del 2022, 202 individuos fueron sacados del invernadero y se mantuvieron bajo un techo de policarbonato. La frecuencia de riego se fue reduciendo progresivamente: las primeras tres semanas se regaron tres veces por semana; las siguientes tres semanas la frecuencia se redujo a dos veces por semana, y posteriormente sólo una vez por semana hasta completar tres meses. Previo a la reintroducción se contó el número de individuos que sobrevivieron al periodo de endurecimiento. A cada individuo se le midió con un vernier la longitud del tallo en milímetros (desde la base hasta el meristemo apical) y se obtuvo su peso fresco en gramos (Fig. 4; A).

Sitio de estudio

Este trabajo se realizó en los alrededores del poblado de Nizanda (16°39' N, 95°00' W), ubicado al sur del Istmo de Tehuantepec, en el Estado de Oaxaca, México. El clima regional es cálido, subhúmedo y altamente estacional (A_{w_0}), con un promedio anual de precipitación cercano a 1000 mm; las lluvias fuertemente concentradas en los meses de junio a octubre (Pérez-García y Meave, 2004). La geología predominante es un complejo metamórfico de filita volcánica y siliciclástica, que es interrumpido esporádicamente por afloramientos de roca caliza que alcanzan elevaciones de hasta 450 m s.n.m. (Pérez-Gutiérrez *et al.*, 2009). En las cimas y escarpes de los afloramientos calcáreos se establece vegetación xerófito, la cual ha sido clasificada en dos tipos de vegetación según el grado de cobertura arbórea: la selva baja caducifolia en roca caliza cuando la cobertura arbórea es $> 100 \%$ y el matorral xerófilo cuando la cobertura arbórea es $< 100 \%$ (Pérez-García y Meave, 2004).

Método de reintroducción

Un total de 112 plantines fueron llevados a campo (en la región de Nizanda) a finales de julio de 2022, durante la época de lluvias. Se hizo una aleatorización simple para separar las plantas en dos grupos; uno fue reintroducido en la cima de Cerro Verde (aproximadamente a 400 m s.n.m.) y el otro en la cima de Piedra Azul aproximadamente a 200 m s.n.m. (Fig. 3). Se eligió a *Plumeria rubra* como forofito, especie que potencialmente puede hospedar una epífita (Zimmerman y Olmsted, 1992), porque es muy abundante en la zona y ha mostrado

ser un buen forofito para *Barkeria whartonia* (Segovia-Rivas *et al.*, 2018). Se buscó plantar un individuo por forofito, aunque en árboles grandes se colocaron hasta dos individuos, aproximadamente a la misma altura (1.50 m). Los individuos se colocaron directamente sobre la superficie del forofito, luego se cubrieron con tiras de papel de cocina y se amarraron con alambre plastificado. Finalmente, se rociaron con agua hasta humedecer por completo el papel (Fig. 4; B).

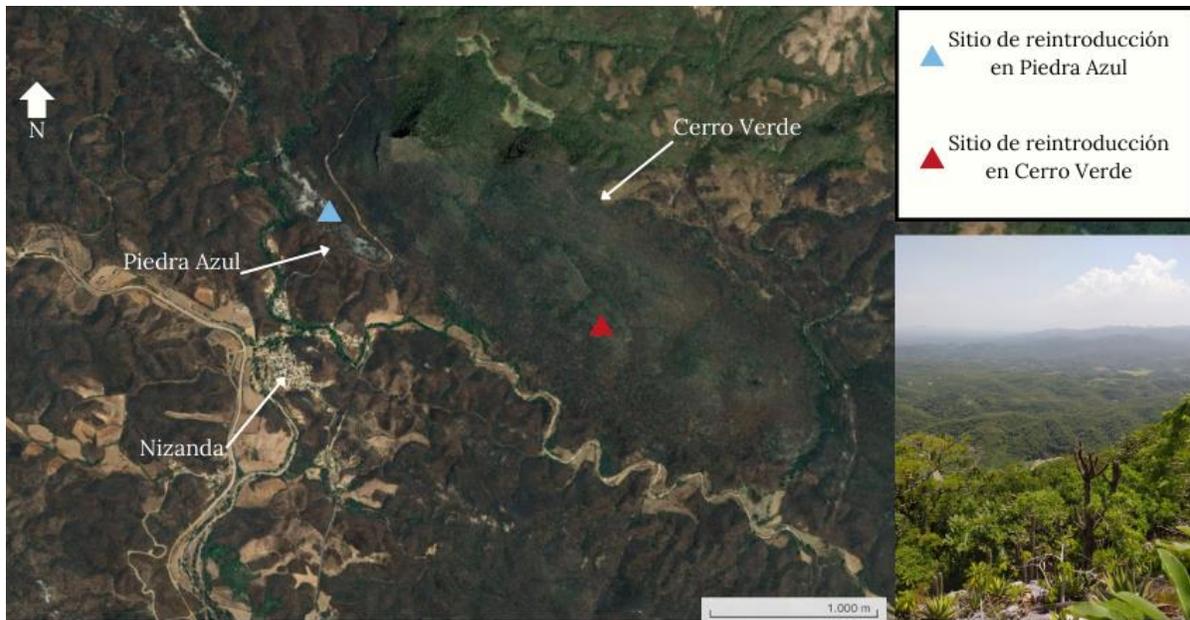


Figura 3. Imagen satelital del sitio de estudio en Nizanda, Oaxaca, México (Google Earth, 2024).

Se llevaron a cabo monitoreos *in situ* al final de la temporada de lluvias (diciembre de 2022) y después de la temporada seca en julio de 2023 (Fig. 4; C y D); se evaluó el establecimiento, considerando como establecidos a los individuos cuyas raíces estaban adheridas al forofito (Fig. 5), y la supervivencia (se consideraron como sobrevivientes aquellos individuos con al menos un tallo o alguna parte del sistema radicular turgente). Tanto el establecimiento como la supervivencia se tomaron como variables binarias categóricas, mientras que el crecimiento se midió contando el incremento en número de brotes en la temporada de lluvias.



Figura 4. Proceso de reintroducción de *Barkeria whartonianiana*: obtención del peso de los plantines previo a la reintroducción (A), primer día de siembra (B), primer monitoreo final de la temporada de lluvias (C), segundo monitoreo final de la temporada seca (D).
Fotografías de C.E. León-Peralta y M. Paredes-Ramírez.



Figura 5. Establecimiento de un plantín de *Barkeria whartoni* reintroducido en la región de Nizanda, Oaxaca. Fotografía de M. Paredes-Ramírez.

Métodos estadísticos

Análisis del experimento de reintroducción actual

Se construyeron 10 modelos lineales generalizados (GLMs), tanto para la supervivencia como para el establecimiento, con distribución binomial y logit como función de enlace (Cuadro 1). Para analizar el incremento en el número de brotes se construyeron cinco GLMs, con distribución Poisson y función de enlace logarítmica (Cuadro 2).

Cuadro 1. Modelos Lineales Generalizados construidos para explicar las probabilidades de supervivencia y establecimiento de individuos de *Barkeria whartonia* del experimento de reintroducción actual.

Modelo	Estructura del Modelo
0	Modelo nulo con ninguna variable explicativa incluida
1	Temporada (temporada seca o temporada de lluvias)
2	Longitud inicial del tallo
3	Peso inicial
4	Temporada + Longitud inicial del tallo
5	Temporada + Peso inicial
6	Peso inicial + Longitud inicial del tallo
7	Temporada \times Longitud inicial del tallo
8	Temporada \times Peso inicial
9	Peso \times Longitud inicial del tallo

Cuadro 2. Modelos Lineales Generalizados contruidos para explicar las probabilidades de incremento en el número de brotes de individuos de *Barkeria whartonia* del experimento de reintroducción actual.

Modelo	Estructura del Modelo
0	Modelo nulo con ninguna variable explicativa incluida
1	Longitud inicial del tallo
2	Peso inicial
3	Longitud inicial del tallo + Peso inicial
4	Longitud inicial del tallo \times Peso inicial

Se utilizó el Criterio de Información de Akaike (AIC) para elegir entre estos modelos; los que tenían el AIC más bajo se consideraron los mejor respaldados y se utilizaron como referencia para el cálculo de Δ AIC. Todos los análisis fueron realizados en R (versión R 4.2.1), usando el paquete lme4 (Bates, *et al.*, 2015) y AICcmodavg (Mazerolle, 2023).

Comparación del experimento de reintroducción de Segovia et al. (2018) con el experimento de reintroducción actual

Se realizó una comparación de los datos obtenidos en el experimento de reintroducción anterior y los datos obtenidos para este experimento. Las variables que pudieron compararse fueron supervivencia, establecimiento y tamaño inicial de las plantas (longitud del tallo). Para hacer la comparativa se construyeron cinco GLMs, con error binomial y logit como función de enlace; esto para cada una de las variables de respuesta (establecimiento y supervivencia). Modelo 0, modelo nulo con ninguna variable explicativa incluida; Modelo 1, con la longitud del tallo (i.e. tamaño inicial de las plantas) como variable explicativa; Modelo 2, con ensayo (donde se engloban los cambios en el protocolo) como variable explicativa; Modelo 3, incluyendo a estas dos últimas variables y Modelo 4, incluyendo también a éstas y su interacción. Se utilizó el criterio de información de Akaike (AIC) para elegir al mejor de entre estos modelos.

Resultados

Análisis del experimento de reintroducción actual

La mayor mortalidad se presentó durante el periodo de endurecimiento, en la que murieron un total de 90 plantines de *Barkeria whartonianana* ($112/202 = 55.45\%$ de supervivencia; Fig. 6). De los 112 plantines reintroducidos, al final de la temporada de lluvias (diciembre 2022) 98 sobrevivieron ($98/112 = 87.5\%$; Fig. 6) y 94 se establecieron exitosamente ($94/112 = 83.92\%$). Para julio de 2023, al término de la época seca, 93 individuos sobrevivieron ($93/98 = 94.89\%$; Fig. 6) y 79 de ellos lograron establecerse. Un número similar de plantines sobrevivieron un año después de la reintroducción en cada sitio (Cerro Verde $47/56 = 83.92\%$ y Piedra Azul $46/56 = 82.14\%$; Fig. 7).

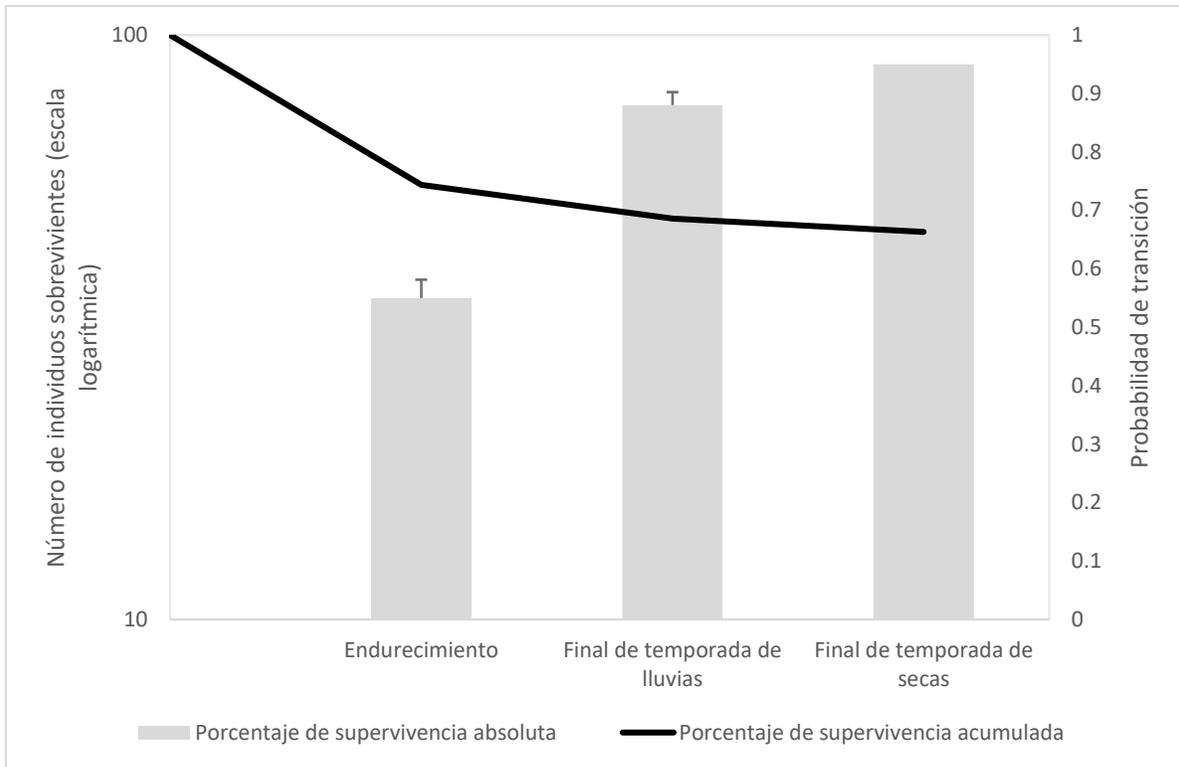


Figura 6. Supervivencia y probabilidad de transición durante el período de endurecimiento y los dos monitoreos *in situ* de plantines reintroducidos de *Barkeria whartoniiana*.

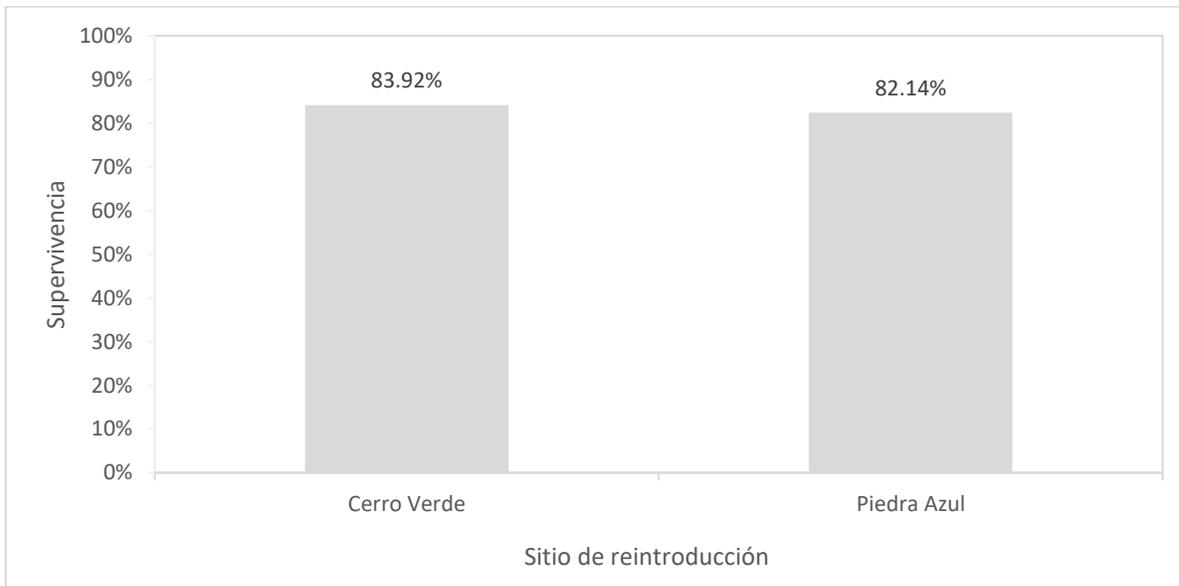


Figura 7. Supervivencia porcentual de *Barkeria whartoniiana* un año después de la reintroducción en ambos sitios.

El peso promedio (\pm SD) de los plantines reintroducidos de *Barkeria whartonia* al inicio del experimento fue de 1.54 ± 1.53 g. Los plantines que sobrevivieron al final del año de la reintroducción tuvieron un peso inicial promedio (\pm SD) de 1.61 ± 1.58 g, mientras que aquellos plantines que no sobrevivieron al final del año tuvieron menor peso inicial (media de 0.74 ± 0.50 g). De acuerdo con lo anterior, los GLMs que incluyeron al peso inicial del plantín para explicar mejor los resultados, tanto de la supervivencia como del establecimiento, que aquellos que excluían a esta variable (Cuadro 3 y 4). Es importante señalar que un número similar de individuos que lograron establecerse al final de la temporada de lluvias sobrevivieron un año después de la reintroducción.

La mortalidad decreció de 16 % al final de la temporada de lluvias (diciembre 2022) a 5.1 % al final de la temporada seca (julio 2023). Asimismo, algunos GLMs que incluían a la temporada como una variable para explicar la supervivencia (Modelo 5 y 8; Cuadro 3) obtuvieron un valor de Δ AIC menor a 2; sin embargo, ambos modelos también incluían al peso inicial de los plantines para explicar los resultados. Lo mismo se pudo observar en el establecimiento, que decreció de 96 % al final de la temporada de lluvias a 85 % al final de la temporada seca. El GLM que incluía tanto al peso inicial como a la temporada como variables explicativas obtuvo un valor de Δ AIC menor a 1 (Modelo 5; Cuadro 4); no obstante, el modelo que sólo consideraba a la temporada no fue el mejor para explicar el establecimiento (Modelo 1; Cuadro 4).

Cuadro 3. Valores del criterio de información de Akaike para la selección entre los diez modelos construidos para explicar las probabilidades de supervivencia de individuos de *Barkeria whartonia* del experimento de reintroducción actual (* = $\Delta AIC < 2$).

Variable de respuesta	Modelo	Variable explicativa	AIC	ΔAIC
Supervivencia	0	1	129.92	8.30
	1	Temporada	131.06	9.44
	2	Longitud del tallo	130.43	8.81
	3	Peso	121.62	0.00*
	4	Temporada + Longitud del tallo	131.60	9.98
	5	Temporada + Peso	122.99	1.37*
	6	Peso + Longitud del tallo	122.89	1.27*
	7	Temporada \times Longitud del tallo	132.72	11.10
	8	Temporada \times Peso	123.33	1.71*
	9	Peso \times Longitud del tallo	123.77	2.15

Cuadro 4. Valores del criterio de información de Akaike para la selección entre los diez modelos construidos para explicar las probabilidades de establecimiento de individuos de *Barkeria whartonia* del experimento de reintroducción actual (* = $\Delta AIC < 2$).

Variable de respuesta	Modelo	Variable explicativa	AIC	ΔAIC
Establecimiento	0	1	197.94	8.84
	1	Temporada	199.07	9.96
	2	Longitud del tallo	195.89	6.78
	3	Peso	189.11	0.00*
	4	Temporada + Longitud del tallo	196.98	7.87
	5	Temporada + Peso	189.92	0.81*
	6	Peso + Longitud del tallo	191.16	2.05
	7	Temporada \times Longitud del tallo	196.61	7.51
	8	Temporada \times Peso	191.97	2.86
	9	Peso \times Longitud del tallo	192.51	3.40

De los 93 individuos de *Barkeria whartoni* que sobrevivieron al final del experimento, 23 lograron formar nuevos brotes. La mayor parte de estos individuos desarrollaron un solo brote nuevo (14 plantines). Tales ejemplares tuvieron un peso inicial promedio (\pm SD) de 1.88 ± 1.68 g. Los que desarrollaron dos brotes (seis plantines) tuvieron un peso inicial promedio (\pm SD) de 3.99 ± 3.26 g. Por último, y como casos extraordinarios, tres individuos lograron desarrollar tres brotes nuevos; estos individuos tuvieron un peso inicial promedio (\pm SD) de 1.99 ± 1.77 g. Los plantines que conservaron el mismo número de brotes desde el inicio hasta el final del experimento tuvieron un peso inicial promedio (\pm SD) de 1.37 ± 1.21 g. Concordando con la observación anterior, aquellos GLMs que incluían al peso inicial del plantín se desempeñaron mejor para explicar los resultados del cambio en el número de brotes que los que excluían a esta variable (Cuadro 5).

Cuadro 5. Valores del criterio de información de Akaike para la selección entre los cinco modelos construidos para explicar las probabilidades de incremento en el número de brotes de individuos de *Barkeria whartoni* del experimento de reintroducción actual. El análisis se basó en datos registrados al final del primer año de reintroducción (* = Δ AIC < 2).

Variable de respuesta	Modelo	Variable explicativa	AIC	Δ AIC
Δ Brotes	0	1	159.52	7.54
	1	Longitud del tallo	158.96	6.98
	2	Peso	151.98	0.00*
	3	Longitud del tallo + Peso	154.12	2.13
	4	Longitud del tallo \times Peso	156.22	4.24

Comparación con el experimento de reintroducción de Segovia-Rivas et al. (2018)

Durante el primer año del experimento de reintroducción Segovia-Rivas *et al.* (2018) tuvieron un porcentaje de supervivencia de 20 %, que contrasta con el 83 % obtenido en este experimento. En ambos experimentos prácticamente todos los individuos que sobrevivieron estaban establecidos.

Aquellos GLMs que incluían a los cambios en el protocolo como variable explicativa (es decir a la variable Ensayo) se desempeñaron mejor para explicar los resultados tanto de la supervivencia como del establecimiento de *Barkeria whartonia* que aquellos que excluían a esta variable (Cuadro 6 y 7).

Cuadro 6. Valores del criterio de información de Akaike para la selección entre los cinco modelos construidos para explicar las probabilidades de supervivencia de individuos de *Barkeria whartonia* de dos experimentos de reintroducción con protocolos distintos. El análisis se basó en datos registrados al final del primer año de cada experimento (* = $\Delta AIC < 2$).

Variable de respuesta	Modelo	Variable explicativa	AIC	ΔAIC
Supervivencia	0	1	258.46	76.90
	1	Longitud del tallo	246.42	64.86
	2	Ensayo	181.56	0.00*
	3	Longitud del tallo + Ensayo	183.52	1.96*
	4	Longitud del tallo \times Ensayo	183.78	2.22

Cuadro 7. Valores de criterio de información de Akaike para la selección entre los cinco modelos construidos para explicar las probabilidades de establecimiento de individuos de *Barkeria whartonia* de dos experimentos de reintroducción con protocolos distintos. El análisis se basó en datos registrados al final del primer año de cada experimento (* = $\Delta AIC < 2$).

Variable de respuesta	Modelo	Variable explicativa	AIC	ΔAIC
Establecimiento	0	1	262.30	59.59
	1	Longitud del tallo	257.70	54.99
	2	Ensayo	202.71	0.00*
	3	Longitud del tallo + Ensayo	203.17	0.46*
	4	Longitud del tallo \times Ensayo	203.55	0.83*

Discusión

Aun cuando la reintroducción puede ser una estrategia para la conservación de especies de orquídeas en peligro de extinción, la mayoría de los trabajos publicados sobre la supervivencia de plantas reintroducidas han reportado valores bajos, al menos durante el primer año después de la plantación (Batty *et al.*, 2006; Reiter *et al.*, 2016; Shao *et al.*, 2017; Hinsley *et al.*, 2018; Zhao *et al.*, 2021). Por este motivo, es muy importante optimizar los procesos de reintroducción, ya que sólo así se tendrán programas más exitosos (Phillips *et al.*, 2020). En este experimento de reintroducción de *Barkeria whartonia* se obtuvo una supervivencia de 83 % al final del primer año, que es notablemente mayor que el 20 % logrado por Segovia-Rivas y colaboradores (2018). Esto se puede adjudicar a los cambios en el protocolo de reintroducción, aunque debido al diseño experimental no se pudo determinar con precisión cuál de estos cambios tuvo más importancia. No obstante, se logró el objetivo de incrementar la supervivencia de los plantines reintroducidos.

Janissen y colaboradores (2021) compararon el desempeño de poblaciones silvestres y reintroducidas de la orquídea terrestre en peligro de extinción *Caladenia amoena* D.L.Jones, encontrando una mayor tasa de mortalidad de los individuos reintroducidos (-5.2 individuos por año) respecto a los silvestres (-1.0 individuos por año). Los autores sugieren que este resultado se debe a que en los hábitats naturales existen múltiples factores que están ausentes en las condiciones de cultivo, por lo que la mortalidad de los individuos reintroducidos pudo ser mayor a la de los silvestres debido a que no habían sido expuestos a los mismos factores. En términos de selección natural, podríamos considerar que los individuos reintroducidos no habían sido sujetos de los procesos de selección, mientras que los silvestres observados ya fueron filtrados por este proceso. Tomando esto en cuenta, se considera que el proceso de endurecimiento, aplicado a los plantines de *Barkeria whartonia* previo a la reintroducción, fue determinante para tener una mayor supervivencia. Es decir, además de funcionar como un proceso de selección, también permitió que el cambio entre las condiciones de cultivo y las del hábitat natural fueran menos abruptas.

La mayor mortalidad en nuestro experimento ocurrió durante el período de endurecimiento (44.5 %), mientras que en el experimento previo la mayor mortalidad (ca. 80

%) se concentró en los primeros dos meses después de la reintroducción (Segovia-Rivas *et al.*, 2018). Resultados similares fueron reportados por Emeterio-Lara y Damon (2024) en la reintroducción de *Guarianthe skinneri* (Bateman) Dressler & W.E. Higgins, obteniendo una supervivencia de 25 % (98 plantines) durante un proceso de endurecimiento previo a la reintroducción. En este sentido, es muy recomendable hacer un proceso de endurecimiento previo a la plantación, no sólo porque la mortalidad es menor a la que se encuentra en el campo, sino porque puede hacer más eficiente y seguro el trabajo de campo, pues se invierte menos tiempo al sembrar menos plantas y se aumenta la probabilidad de supervivencia.

Otro factor que debió ser significativo para el resultado obtenido en este estudio fue el uso de toalla de papel de cocina en lugar de *Sphagnum* como mejorador del sustrato. A pesar de que el uso de toallas de papel no ha sido documentado en la literatura, es una técnica que fue recomendada por el horticultor Allen Black (com. pers.) al grupo de investigación al que pertenezco. Esta técnica ha sido utilizada en el Orquideario MAS, FC, UNAM para la aclimatación a condiciones *ex vitro* de plantines de *Barkeria* y de otras orquídeas epífitas provenientes de cultivo *in vitro*. Si bien la mayoría de las orquídeas epífitas no requieren de material orgánico que les proporcione humedad, sí les ayuda a que las plantas se hidraten mejor. Esto es particularmente importante en las condiciones de campo donde viven las especies de *Barkeria*, que son ambientes muy marginales y estresantes para las orquídeas epífitas por la falta de humedad. Aunado a lo anterior, el hecho de que se usara como forofito a una especie de corteza lisa, con baja capacidad de retención de agua, dio la pauta para buscar un agente que mejorara la retención de humedad en las raíces.

Se decidió utilizar toallas de papel de cocina como mejorador del sustrato debido a que son más higroscópicas que el *Sphagnum* al humedecerse aún con lloviznas ligeras, aunado a que tienen una mayor superficie de captación de agua. En el sitio de estudio, por efecto del fuerte viento, se generan lloviznas ligeras casi horizontales que permiten hidratar a la toalla de papel que está en contacto directo con la raíz de los plantines de las *Barkeria*. Adicionalmente, cabe destacar que las toallas de papel ofrecen varias ventajas prácticas durante la reintroducción de los individuos en campo al ser: fáciles de conseguir, son mucho más económicas, más fáciles de manipular, no se necesitan hidratar previamente y no se degradan tan fácilmente.

Además de las ventajas mencionadas, al parecer, las toallas de papel facilitan la adherencia de las raíces a la corteza del forofito, favoreciendo el establecimiento de los plantines. Tanto los resultados de este ensayo de reintroducción como el realizado previamente (Segovia-Rivas *et al.*, 2018), así como el de Emeterio-Lara y Damon (2024) con *Guarianthe skinneri*, mostraron que los plantines que logran establecerse tienen una mayor probabilidad de supervivencia. Por este motivo, se sugiere que el uso de las toallas de papel de cocina puede optimizar el proceso de establecimiento de los plantines, y con ello tener mejores resultados en los ensayos de reintroducción de orquídeas epífitas.

Mullin y colaboradores (2022) compararon la supervivencia y el desarrollo de dos orquídeas epífitas, *Trichocentrum undulatum* (Sw.) Ackerman & M.W. Chase y *Encyclia tampensis* (Lindl.) Small, así como de la orquídea semiterrestre *Oncidium ensatum* Lindl., con dos tratamientos de aclimatización *ex vitro*: musgo *Sphagnum* y fibra de coco. Sus resultados sugieren que la fibra de coco fue un mejor medio para la aclimatización, especialmente para las especies epífitas, probablemente debido a la menor duración de la retención de agua en ese material respecto al *Sphagnum*. Este resultado puede sonar contradictorio a lo que argumento; a pesar de que el exceso de humedad es un problema en condiciones de cultivo, no considero que sea muy importante en condiciones de campo. De cualquier forma, las toallas de papel cumplen una doble función, se hidratan más fácilmente, pero también se secan más rápido que el *Sphagnum*. De este modo, el posible exceso de humedad en la temporada lluviosa es menos adverso en las toallas de papel.

En el experimento de reintroducción realizado por Segovia-Rivas y colaboradores (2018) demostraron que tanto el establecimiento como la supervivencia de *Barkeria whartonianana* están fuertemente relacionados con el vigor de las plantas reintroducidas, en este caso, por el largo inicial del tallo. Los plantines más grandes tienden a tener los pseudobulbos más largos y suculentos, lo que les permite soportar la deshidratación durante la temporada seca (Yam *et al.*, 2011). Sin embargo, en los resultados aquí presentados los modelos que sólo incluían al largo inicial del tallo como variable explicativa no tuvieron el mejor desempeño para explicar los resultados de ninguna de las tres variables analizadas (supervivencia, establecimiento, y número de brotes). Por otro lado, los modelos que

explicaron mejor el comportamiento de estas tres variables del desempeño fueron los que consideraban al peso inicial del plantín como variable explicativa. Esto coincide con los resultados obtenidos por Smith y colaboradores (2009) en la reintroducción de la orquídea terrestre *Diuris fragrantissima* D.L.Jones & M.A.Clem., en la que el tamaño del tubérculo se correlacionó positivamente con la supervivencia y la floración de las plantas reintroducidas. Consideramos que esta discordancia en los resultados entre el efecto del largo inicial del tallo y el peso inicial de los plantines puede deberse a que las plantas menos elongadas tienen a su vez menos superficie de evapotranspiración. Añadido a esto, aunque ambas variables miden el vigor de las plantas, el peso refleja de mejor manera el engrosamiento de los pseudobulbos (Emeterio-Lara *et al.*, 2021), así como un sistema radicular más desarrollado.

Como ocurrió en el experimento de Segovia-Rivas y colaboradores (2018), la temporada de seca no tuvo un efecto negativo en la supervivencia de los plantines reintroducidos de *B. whartoni*, debido a que la mortalidad al finalizar la temporada de seca (5.1 %, 5 plantines) no fue mayor a la mortalidad ocurrida al final de la temporada de lluvias (16 %, 14 plantines). En un estudio realizado por Liu y colaboradores (2012), con 462 individuos translocados pertenecientes a 20 diferentes especies de orquídeas, no se encontró un efecto directo en la mortalidad al transcurrir un periodo de sequía. Los autores proponen que, dado que la mayoría de las orquídeas estudiadas eran epífitas o litófitas, es probable que estén bien adaptadas a condiciones periódicas de sequía extrema. A pesar de no encontrar un efecto negativo de la temporada en la supervivencia, recomendamos que la plantación de los plantines reintroducidos se realice antes o durante la temporada de lluvias, dado que los individuos que son plantados en este período se establecen rápidamente, facilitando así su supervivencia y desarrollo (Yam *et al.*, 2011).

Aspectos del sitio de estudio

Algunos estudios han demostrado la importancia de la selección del sitio en el éxito del establecimiento de poblaciones de orquídeas translocadas, en relación con aspectos ecológicos específicos del sitio como la humedad, la temperatura, la presencia de hongos micorrízicos, etc. (Batty *et al.*, 2006; Scade *et al.*, 2006; Smith *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2012; Emeterio-Lara y Damon, 2024). Incorporar el registro de algunas variables del sitio a los experimentos de reintroducción nos permitirá predecir sobre el desarrollo de las poblaciones

reintroducidas y entender las limitaciones ecológicas y climáticas necesarias para la selección del sitio (Reiter *et al.*, 2016). A pesar de ello, en nuestro experimento de reintroducción no encontramos diferencias en la supervivencia entre los dos sitios de reintroducción (Cerro Verde 83.92 % y Piedra Azul 82.14 %), esto puede deberse a que la diferencia del gradiente altitudinal entre los sitios de reintroducción no fue suficiente para que existan variaciones importantes en las condiciones climáticas. Aunado a esto, uno de los sitios que fue utilizado en este experimento (Piedra Azul) colinda con los sitios de reintroducción utilizados por Segovia-Rivas y colaboradores (2018), lo que contribuiría a que el efecto del sitio de reintroducción tuviera poca relevancia para los resultados.

En el experimento realizado por Segovia-Rivas y colaboradores (2018) se destaca la posible influencia del clima en los resultados obtenidos, ya que el año de la reintroducción (2014) fue particularmente seco (un promedio anual de 75.6 % HR). El período en el que realizamos el experimento de reintroducción actual (julio 2022 a julio 2023) fue ligeramente más húmedo, un promedio anual de 77.1 % HR (Muñoz *et al.*, 2024), aunque las condiciones climáticas pudieron haber sido más favorables, debido a que tanto en el experimento de Segovia-Rivas y colaboradores (2018) como en el actual, la temporada seca no tuvo un efecto negativo en la supervivencia de los plantines reintroducidos de *B. whartonia*, por lo que considero que esta diferencia en la humedad relativa entre ambos períodos podría no ser suficiente para tener un efecto importante en los resultados.

Consideraciones finales

Este estudio demuestra que un mayor endurecimiento de las plantas y el uso de las toallas de papel de cocina aumentan notoriamente la supervivencia en la reintroducción de plantines de *B. whartonia*, al menos durante el primer año. No obstante, si consideramos que una reintroducción exitosa debe tener como objetivo principal conseguir poblaciones autosostenibles que no requieren mayor intervención (Reiter *et al.*, 2016), es demasiado pronto para determinar el éxito o el fracaso del experimento de reintroducción aquí presentado. Los beneficios futuros de la conservación de las orquídeas dependerán de proporcionar ciencia que guíe las acciones de conservación (Walker *et al.*, 2013). Por ello, sugerimos dar seguimiento a estos individuos de *B. whartonia* reintroducidos para ser registrar otras variables como la floración, la formación de frutos y el reclutamiento de

nuevas plantas a partir de semillas. No obstante, es notorio que unos cuantos cambios en los protocolos de reintroducción podrían mejorar sustancialmente los resultados iniciales, que consistentemente son los más importantes en cuanto a la pérdida de ejemplares reintroducidos.

Literatura citada

- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., & Walker, S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1-48. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- Batty, A. L., Brundrett, M. C., Dixon, K. W., y Sivasithamparam, K. (2006). In situ symbiotic seed germination and propagation of terrestrial orchid seedlings for establishment at field sites. *Australian Journal of Botany*, 54(4), 375-381. <https://doi.org/10.1071/BT04024>
- Benzing, D. H. (2008). *Vascular epiphytes: General Biology and Related Biota*. Lowman, M. D., Nadkarni, N. M. (Eds.), Forest canopies, 175-211. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Bronstein, J. L., Armbruster, W. S., y Thompson J. N. (2014). Understanding evolution and the complexity of species interactions using orchids as a model system. *New Phytol*, 202, 373–375. <https://doi.org/10.1111/nph.12707>
- Chen, J., Franklin, J. F., y Spies, T. A. (1993). Contrasting microclimates among clearcut, edge, and interior of old-growth Douglas-fir forest. *Agricultural and forest meteorology*, 63(3-4), 219-237. [https://doi.org/10.1016/0168-1923\(93\)90061-L](https://doi.org/10.1016/0168-1923(93)90061-L)
- Convention on Biological Diversity. (2012). *The global strategy for plant conservation: 2011-2020*. Botanic Gardens Conservation International.
- Dearnaley, J. D., Martos, F., y Selosse, M. A. (2012). 12 Orchid mycorrhizas: molecular ecology, physiology, evolution and conservation aspects. In *Fungal associations* (pp. 207-230). Berlín, Heidelberg: Springer Berlín Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-30826-0_12
- Dixon, K., y Phillips, R. D. (2007). The orchid conservation challenge. *Lankesteriana: International Journal on Orchidology*, 7(1-2), 11–12. <https://doi.org/10.15517/lank.v7i1-2.18384>

- Dressler, R. L. (1993). *Phylogeny and Classification of the Orchid Family* (pp. 8-11). Cambridge, England: Cambridge University Press.
- Duncan, M., Pritchard, A., y Coates, F. (2005). Major Threats to Endangered Orchids of Victoria, Australia. *Selbyana*, 26(1/2), 189–195. <http://www.jstor.org/stable/41760190>
- Emeterio-Lara A., y Damon A. (2024). Acclimatization with endophytic fungi and reintroduction of *Guarianthe skinneri* (Bateman) Dressler & WE Higgins, a threatened, native orchid of cultural value in southern Mexico. *Journal for Nature Conservation*, 78, 126573. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2024.126573>
- Emeterio-Lara, A., García-Franco, J. G., Hernández-Apolinar, M., Toledo-Hernández, V. H., Valencia-Díaz, S., y Flores-Palacios, A. (2021). Does extraction of orchids affect their population structure? Evidence from populations of *Laelia autumnalis* (Orchidaceae). *Forest Ecology and Management*, 480, 118667. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118667>
- Fay, M. F. (2018). Orchid conservation: how can we meet the challenges in the twenty-first century?. *Botanical studies*, 59, 1-6. <https://doi.org/10.1186/s40529-018-0232-z>
- Fitzjarrald, D. R. y Moore, K.E.(1995).Physical mechanisms of heat and mass exchange between forests and the atmosphere. En: Lowman, M.D y Nadkarni, N.M. (eds.) *Forest Canopies* (pp. 41-72), San Diego, California, Academic Press.
- Gentry, A. H., y Dodson, C. (1987). Contribution of nontrees to species richness of a tropical rain forest. *Biotropica*, 149-156. <https://doi.org/10.2307/2388737>
- Google Earth. (n.d.). [Mapa]. Recuperado el 28 de mayo de 2024. <https://earth.google.com/web/@16.66264226,-94.99576218,357.67258023a,6260.31037965d,35y,0h,0t,0r/data=OgMKATA>
- Guerrant, E. O. (2012). Characterizing two decades of rare plant reintroductions. *Plant reintroduction in a changing climate: promises and perils*, 9-29. https://doi.org/10.5822/978-1-61091-183-2_2

- Guerrant Jr, E. O. (2013). The value and propriety of reintroduction as a conservation tool for rare plants. *Botany*, 91(5), v-x. <https://doi.org/10.1139/cjb-2012-0239>
- Hernández-Apolinar, P. A., Gutiérrez-Paredes, C. C., Sánchez-Gallen, I., Aguirre, E., y Pérez-García, E. A. (2012). Ecological aspects of *Cypripedium irapeanum* La Llave & Lex., an endangered Mexican orchid species. *SOA Newsletter*, 13(4), 1-5.
- Hirata, A., Kamijo, T., y Saito, S. (2009). Host trait preferences and distribution of vascular epiphytes in a warm-temperate forest. *Plant Ecology*, 201, 247–254. https://doi.org/10.1007/978-90-481-2795-5_19
- Hinsley, A., De Boer, H. J., Fay, M. F., Gale, S. W., Gardiner, L. M., Gunasekara, R. S., ... y Phelps, J. (2018). A review of the trade in orchids and its implications for conservation. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 186(4), 435-455. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/box083>
- Hopper, S. D. (1998). An Australian perspective on plant conservation biology in practice. *Conservation Biology: for the Coming Decade*. Boston, MA: Springer US, 255–278. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2880-4_10
- Hopper, S. D. (2000). How well do phylogenetic studies inform the conservation of Australian plants? *Australian Journal of Botany*, 48(3), 321-328. <https://doi.org/10.1071/BT99027>
- Janissen, B., French, G., Selby-Pham, J., Lawrie, A. C., y Huynh, T. (2021). Differences in emergence and flowering in wild, re-introduced and translocated populations of an endangered terrestrial orchid and the influences of climate and orchid mycorrhizal abundance. *Australian Journal of Botany*, 69(1), 9-20. <https://doi.org/10.1071/BT20102>
- Kreft, H., Köster, N., Küper, W., Nieder, J., y Barthlott, W. (2004). Diversity and biogeography of vascular epiphytes in Western Amazonia, Yasuní, Ecuador. *Journal of Biogeography*, 31(9), 1463-1476. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2004.01083.x>

- Laube, S., y Zotz, G. (2003). Which abiotic factors limit vegetative growth in a vascular epiphyte? *Functional ecology*, 17(5), 598-604. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2435.2003.00760.x>
- Ledesma Jimeno, M. (2011). *Principios de meteorología y climatología*. Ediciones Paraninfo, SA.
- Liu, H., Feng, C. L., Chen, B. S., Wang, Z. S., Xie, X. Q., Deng, Z. H., y Luo, Y. B. (2012). Overcoming extreme weather challenges: successful but variable assisted colonization of wild orchids in southwestern China. *Biological Conservation*, 150(1), 68-75. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2012.02.018>
- Maschinski, J., Falk, D. A., Wright, S. J., Possley, J., Roncal, J., y Wendelberger, K. S. (2012). Optimal locations for plant reintroductions in a changing world. *Plant reintroduction in a changing climate: promises and perils*, 109-129. https://doi.org/10.5822/978-1-61091-183-2_7
- Mazerolle, M. J. (2023). AICcmodavg: Model selection and multimodel inference based on (Q)AIC(c). *R package version 2.3.3*. <https://cran.r-project.org/package=AICcmodavg>
- McIlveen, R. (1998). *Fundamentals of weather and climate*. Psychology Press.
- Migenis, L. E., y Ackerman, J. D. (1993). Orchid—phorophyte relationships in a forest watershed in Puerto Rico. *Journal of Tropical Ecology*, 9(2), 231-240. <https://doi.org/10.1017/S0266467400007227>
- Mondragón, D., Valverde, T., y Hernández-Apolinar, M. (2015). Population ecology of epiphytic angiosperms: A review. *Tropical Ecology*, 56, 1–39. <https://doi.org/10.13140/2.1.4043.5849>
- Mullin, A., Costa, B. N. S., Downing, J., y Khoddamzadeh, A. A. (2022). Conservation horticulture: *In vitro* micropropagation and acclimatization of selected Florida native orchids. *HortScience*, 57(9), 1159-1166. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI16672-22>

- Muñoz, R., Bongers, F., Lebrija-Trejos, E., Gallardo-Cruz, J. A., Enríquez, M., Romero-Romero, M. A., López-Mendoza, R. D., & Meave, J. A. (2024). Daily weather data from Nizanda, Mexico (2006-2024) (2024.03.25) [Base de datos]. Zenodo. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7970409>
- Nadkarni, N. M., Parker, G. G., Rinker, H. B., & Jarzen, D. M. (2004). *The nature of forest canopies*. Lowman, M. D., Nadkarni, N. M. (Eds.), Forest canopies, 3-23. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Nuammee, A., Pingyot, T., Foowan, S., Pumikong, S., Rujichaipimon, W., Sornpood, S., y Panyadee, P. (2024). Effect of substrates of transplantation of the rare epiphytic orchid *Dendrobium farmeri* for conservation. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 25(2). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d250230>
- Parker G. G. (1995). *Structure and microclimate of forest canopies*. Lowman, M. D., Nadkarni, N. M. (Eds.), Forest Canopies, 73-106. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Parthibhan, S., Kumar, T. S., y Rao, M. V. (2015). Phenology and reintroduction strategies for *Dendrobium aequum* Lindley—An endemic, near threatened orchid. *Journal for Nature Conservation*, 24, 68-71. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2014.11.003>
- Pérez-García, E. A. (2013). *Barkeria whartonia*, eine endemische Art vom Aussterben bedroht. *Die Orchidee. Journal zur Förderung der Orchideenkunde*, 64, 12–16.
- Pérez-García, E. A., y Meave, J. (2004). Heterogeneity of xerophytic vegetation of limestone outcrops in a tropical deciduous forest region in southern México. *Plant Ecology*, 175, 147–163. <https://doi.org/10.1007/s11258-005-4841-8>
- Pérez-Gutiérrez, R., Solari, L. A., Gómez-Tuena, A., y Valencia, V. A. (2009). El terreno Cuicateco: ¿cuenca oceánica con influencia de subducción del Cretácico Superior en el sur de México? Nuevos datos estructurales, geoquímicos y geocronológicos. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 26, 222–242.

- Phillips, R. D., Reiter, N., y Peakall, R. (2020). Orchid conservation: from theory to practice. *Annals of Botany*, 126(3), 345-362. <https://doi.org/10.1093/aob/mcaa093>
- Ramsay, M. M., y Dixon, K. W. (2003). Propagation science, recovery and translocation of terrestrial orchids. *Orchid conservation*, 259-288.
- Rasmussen, H. N., Dixon, K. W., Jersáková, J., y Těšitelová, T. (2015). Germination and seedling establishment in orchids: a complex of requirements. *Annals of Botany*, 116(3), 391-402. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv087>
- Raventós, J., González, E., Mújica, E., y Doak, D. F. (2015). Population viability analysis of the epiphytic ghost orchid (*Dendrophylax lindenii*) in Cuba. *Biotropica*, 47, 179–189. <https://doi.org/10.1111/btp.12202>
- Reiter, N., Whitfield, J., Pollard, G., Bedggood, W., Argall, M., Dixon, K., et al. (2016). Orchid re-introductions: An evaluation of success and ecological considerations using key comparative studies from Australia. *Plant Ecology*, 217, 81–95. <https://doi.org/10.1007/s11258-015-0561-x>
- Rabinowitz, D. (1981). Seven forms of rarity. *Biological aspects of rare plant conservation*. (pp. 205-217). Sydney: John Wiley & Sons.
- Salas-Morales, S. H., Meave, J. A., y Trejo, I. (2015). The relationship of meteorological patterns with changes in floristic richness along a large elevational gradient in a seasonally dry region of southern Mexico. *International Journal of Biometeorology*, 59, 1861-1874. <https://doi.org/10.1007/s00484-015-0993-y>
- Scade, A., Brundrett, M. C., Batty, A. L., Dixon, K. W., & Sivasithamparam, K. (2006). Survival of transplanted terrestrial orchid seedlings in urban bushland habitats with high or low weed cover. *Australian Journal of Botany*, 54(4), 383-389. <https://doi.org/10.1071/BT04025>
- Segovia-Rivas, A., Meave, J. A., González, E. J., y Pérez-García, E. A. (2018). Experimental reintroduction and host preference of the microendemic and endangered orchid

Barkeria whartonia in a Mexican Tropical Dry Forest. *Journal for Nature Conservation*, 43, 156–164. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2018.04.004>

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2019). *Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo* (actualización). Diario Oficial de la Federación. <https://diariooficial.gob.mx/normasOficiales.php?codp=8007&view=si#gsc.tab=0>

Shao, S. C., Burgess, K. S., Cruse-Sanders, J. M., Liu, Q., Fan, X. L., Huang, H., y Gao, J. Y. (2017). Using in situ symbiotic seed germination to restore over-collected medicinal orchids in Southwest China. *Frontiers in Plant Science*, 8, 888. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00888>

Smith, Z. F., James, E. A., McDonnell, M. J., y McLean, C. B. (2009). Planting conditions improve translocation success of the endangered terrestrial orchid *Diuris fragrantissima* (Orchidaceae). *Australian Journal of Botany*, 57(3), 200-209. <https://doi.org/10.1071/BT09072>

Sosa, V., y Platas, T. (1998). Extinction and persistence of rare orchids in Veracruz, Mexico. *Conservation Biology*, 12(2), 451-455. <http://www.jstor.org/stable/2387515>

Soto-Arenas, M. A., Solano Gómez, R., y Hágsater, E. (2015). Risk of extinction and patterns of diversity loss in Mexican orchids. *Lankesteriana: International Journal on Orchidology*, 7, 114–121. <https://doi.org/10.15517/lank.v7i1-2.18449>

Swarts, N. D., y Dixon, K. W. (2009). Terrestrial orchid conservation in the age of extinction. *Annals of botany*, 104(3), 543-556. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp025>

Teixeira da Silva, J. A., Hossain, M. M., Sharma, M., Dobránszki, J., Cardoso, J. C., y Zeng, S.J. (2017). Acclimatization of in vitro-derived *Dendrobium*. *Horticultural Plant Journal*, 3(3), 110-124. <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2017.07.009>

- Walker, T., Harris, S. A., y Dixon, K. W. (2013). Plant conservation: The seeds of success. In D.W. Macdonald, y K. J. Willis (Eds.), *Key topics in conservation biology*. 2, 313-326. <https://doi.org/10.1002/9781118520178.ch17>
- Yam, T. W., Tay, F., Ang, P., y Soh, W. (2011). Conservation and reintroduction of native orchids of Singapore—The next phase. *European Journal of Environmental Sciences*, 1, 38–47. <https://doi.org/10.14712/23361964.2015.45>
- Zettler, L. W., Poulter, S. B., McDonald, K. I., y Stewart, S. L. (2007). Conservation-driven propagation of an epiphytic orchid (*Epidendrum nocturnum*) with a mycorrhizal fungus. *HortScience*, 42(1), 135–139. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.42.1.135>
- Zhao, D. K., Selosse, M. A., Wu, L., Luo, Y., Shao, S. C., y Ruan, Y. (2021). Orchid reintroduction based on seed germination-promoting mycorrhizal fungi derived from protocorms or seedlings. *Frontiers in Plant Science*, 12, 701152. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.701152>
- Zimmerman, J. K., y Olmsted, I. C. (1992). Host tree utilization by vascular epiphytes in a seasonally inundated forest (Tintal) in Mexico. *Biotropica*, 20, 402-407. <https://doi.org/10.2307/2388610>