

**POSGRADO EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESTUDIO ECOFISIOLÓGICO DE
Tillandsia dasyliriifolia Baker
(Bromeliaceae)
EN EL VALLE DE ZAPOTITLAN
PUEBLA**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
DOCTORA EN CIENCIAS (Biología)

PRESENTA

MA. DOLORES GARCIA SUAREZ

DIRECTORES DE TESIS:

DR. GUILLERMO LAGUNA HERNANDEZ

DR. VICTOR RICO GRAY

MEXICO, D.F. FEBRERO 2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



**Héctor, mi compañero y esposo.
Con todo mi amor agradezco tu constante apoyo
y compañía**

**Héctor Daniel y Fernanda María, mis queridos
hijos. Ustedes son mi alegría que me acompañan
en todo momento.**

**A mis padres Gloria y Jorge que con su ejemplo
de vida, han influido grandemente en la mía,
gracias por todo.**



AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Guillermo Laguna y Dr. Víctor Rico Gray por la dirección del presente trabajo de tesis, por su apoyo académico y personal, por el trabajo de campo y en el laboratorio y sobre todo por su gran paciencia.

A todo el personal del Departamento de Biología de la UAM Iztapalapa quienes de alguna manera han contribuido día a día en mi formación como Bióloga, en especial Maru Fraile, Angélica Martínez.

A mis compañeros y amigos por simplemente ser.

Al Personal Académico que conformo el jurado Dra. Margarita Collazo Ortega, Dr. Guillermo Laguna Hernández, Dr. Víctor Rico Gray, Dr. José Guadalupe García Franco, Dr. Víctor Barradas, Dra. Alma Orozco, Dr. Marco Soto Hernández por la revisión crítica y sugerencias favorables para este escrito.

A mis alumnos con cariño.

A la Dra. María Flores y Dr. Ernesto Aguirre por la identificación de las *Tillandsia*.

Al Dr. J. Utle y M. en C. Patricia Magaña, por sus comentarios alentadores respecto al trabajo en sus inicios y la identificación de las *Tillandsia*.

Al Dr. Alfonso Larqué Saavedra, a Rubén San Miguel, a Nidia Molina, A Max alias Jorge a Eduardo Martínez, a Iris Morgado y María Elena García por su ayuda, muchas gracias.

A Ale, Jorge Alberto y Oso por su compañía en el campo.

Al Dr. Bennett por la revisión del artículo *In vitro* germination ... así como a los revisores anónimos que contribuyeron a la publicación de los artículos muchas gracias.



A Doña Eufrosina, Don Pedro y pobladores del Valle de Zapotitlán, Muchas gracias.



CONTENIDO

Resumen	1
Summary	3
Descripción de la Tesis	5

INTRODUCCIÓN

Introducción General	10
Especies de <i>Tillandsia</i> en el Valle de Zapotitlán, Puebla	25
Objetivos	29
Metodología	30

CAPITULO I

Sitio de Estudio	48
------------------	----

CAPITULO II

Distribución y abundancia de <i>Tillandsia</i> spp (Bromeliaceae) en el Valle de Zapotitlán Puebla	56
--	----

CAPITULO III

Germinación y establecimiento de <i>Tillandsia dasyliiriifolia</i> Baker (Bromeliaceae) en el Valle de Zapotitlán, Puebla, México	79
Germinación <i>in vitro</i> y propagación clonal de la especie endémica <i>Tillandsia califanii</i> Rauh (Bromeliaceae) México	101

CAPITULO IV

Morfología y anatomía de tres especies de <i>Tillandsia</i> (Bromeliaceae) en el Valle de Zapotitlán, Puebla, México.	120
Ecofisiología de <i>Tillandsia dasyliiriifolia</i> Baker (Bromeliaceae). Patrón Fotosintético	140

CAPITULO V

Discusión y consideraciones finales	163
-------------------------------------	-----

RESUMEN

Este estudio contribuye al conocimiento de algunos aspectos de la ecofisiología de las poblaciones de *Tillandsia dasyliiriifolia* que permite entender el papel que desempeña como epífita en la estructura de dos comunidades vegetales: el Izotal y el Cardonal en donde se establece en dos diferentes árboles hospederos: *Beaucarnea gracilis* y *Cephalocereus columna trajani* en el Valle de Zapotitlán, Puebla. En esta obra, se describen las estrategias reproductivas, adaptaciones fenológicas, morfológicas, anatómicas y fisiológicas de *T. dasyliiriifolia* y se compara con las otras dos especies de epífitas con las que coexiste en el mismo ambiente: *T. califanii* y *T. recurvata*, que les han permitido sobrevivir en un ambiente semiárido.

Se determinó la abundancia y distribución de las poblaciones de *T. dasyliiriifolia* dentro del área de estudio, siendo el principal hospedero el árbol *Beaucarnea gracilis*, que llega a medir 7 m de altura con un diámetro mayor de copa de 5 m de longitud y en segundo lugar el cacto columnar gigante *Cephalocereus columna trajani* con una altura máxima que varía entre 10 y 16 m como segunda opción, el establecimiento de la epífita se ve limitado a la morfología del cacto no ramificado. Se realizó un censo poblacional en el que se cuantificaron las especies de epífitas encontradas, se midieron en base y altura, se hicieron registros de: i) la altura a la que se encontró en el hospedero, ii) la orientación respecto al forofito; para el hospedero *Beaucarnea gracilis* el dosel se dividió en cinco estratos.

Las poblaciones de *T. dasyliiriifolia* así como de las otras dos especies de *Tillandsia* encontradas tanto en el Izotal como en el Cardonal, se agruparon en cuatro categorías: plantas madres, individuos jóvenes, plántulas provenientes de propagación vegetativa y plántulas provenientes de la germinación *in situ*.

Las tres especies de *Tillandsia* se establecen verticalmente en diferentes estratos del árbol *Beaucarnea gracilis* siendo los tres niveles inferiores: muy baja, baja y mediana los que comprenden el 93% de las poblaciones de *Tillandsia dasyliiriifolia* y *Tillandsia califanii* tiene pocos individuos en los dos estratos superiores y para *T. recurvata*, se encontró en los dos niveles inferiores, nunca en los superiores y localizada principalmente hacia el centro del forofito. Así mismo, las tres especies exhibieron una orientación espacial diferente: *Tillandsia dasyliiriifolia* se orienta en un 53% hacia el sur (SW y SE); *Tillandsia califanii* en un 58% hacia el norte (NW y NE) y *Tillandsia recurvata* en un 68% hacia el oeste (NW y SW) esta última al ocupar los sitios más bajos del árbol de *Beaucarnea gracilis* no afecta la distribución de las otras dos especies.

En el cardonal *T. dasyliiriifolia* aparentemente se encuentra más expuesta a la radiación solar por la falta de hojas del forofito que la protejan, su distribución preferencial se orienta hacia el NW donde las condiciones de luz son menores coincidiendo con la misma orientación donde se encuentra el pseudocefalio lanoso del cacto columnar.

Se determinó el estatus reproductivo de *T. dasyliiriifolia* que como especie monocárpica, semélpara, produce una espiga que contiene miles de semillas cuya morfología externa presenta apéndices plumosos que miden 4 mm de longitud y que permiten su dispersión por el viento. La energía de la planta se dedica a este esfuerzo reproductivo y a la producción de brotes asexuales en la base de las plantas, plántulas que permanecen en el árbol al morir la planta madre. Se describe la fenología de *T. dasyliiriifolia*. Su

producción floral es en mayo, sus cápsulas tardan en madurar nueve meses, las semillas se liberan en febrero y la época de lluvias más cercana llega 4 meses después.

Los estudios de germinación determinaron que sus semillas son fotoblásticas positivas, para ello requieren de humedad relativa abundante, sin necesidad de adicionar nutrimentos, exceso de sales puede inhibir la germinación y posterior sobrevivencia. La germinación *in situ* no se observó, pero sí la presencia de plántulas de 0.3 a 1.5 cm, creciendo en las espigas de la infrutescencia. Paralelo a este estudio, se comparó con el estatus reproductivo de *T. califanii* especie simpátrica, endémica y cuya viabilidad de sus semillas es baja, baja tasa de germinación, con semillas fotoblásticas indistintas y se determinó un estado vulnerable para esta especie.

Se estudió la anatomía de *T. dasyliriifolia*, resaltando diferentes estructuras consideradas como adaptaciones para sobrevivir en un medio ambiente xérico, como son: la presencia de tricomas y escamas en su epidermis cutinizada, presencia de una hipodermis esclerificada, los estomas hundidos poco evidentes; el mesófilo formado por células de parénquima, con vacuolas que ocupan casi todo el lumen celular y cloroplastos periféricos; éste tejido, así mismo presenta aerénquima interfascicular que aunado con las células de parénquima sugieren un mecanismo fotosintético tipo metabolismo del ácido crasuláceo (CAM) y los haces vasculares rodeados por fibras perivasculares que evitan la pérdida de agua y la presencia de células de la vaina, característica del mecanismo fotosintético C₄. El estudio realizado para determinar la toma de CO₂, mostró que ésta es diurna y nocturna lo que sugiere un mecanismo fotosintético híbrido entre el metabolismo CAM y el C₄.

El presente estudio contribuye al conocimiento de algunos aspectos de la ecofisiología que permitan entender el establecimiento, la sobrevivencia y la estructura de las poblaciones de *Tillandsia dasylirifolia* en el Valle de Zapotitlán y remarca que la conservación de las epífitas depende de la sobrevivencia de sus forofitos; estas se pueden conservar mientras se mantengan en pie los forofitos seleccionados a través de su historia de vida, evento que no es fortuito y cuya relación ha sido poco estudiada. De esta forma se resalta la importancia de las plantas epífitas como forma de vida que en muchas ocasiones no son consideradas dentro de las comunidades vegetales.

SUMMARY

This work contributes to the knowledge of some ecophysiological aspects of the plant population structure of *Tillandsia dasyliriifolia*, in two different plant communities: the Izotal and the Cardonal where it established in two very different host trees: *Beaucarnea gracilis* and *Cephalocereus columna trajani* at the Valley of Zapotitlán, Puebla. In this work, the reproductive and adaptive strategies for *T. dasyliriifolia* are described; considering its

phenology, morphology, anatomy and physiology and comparing it with two other *Tillandsia* species with which it coexists: *Tillandsia califanii* and *Tillandsia recurvata* characteristics that have allowed this epiphyte to inhabit a semiarid environment .

The distribution and abundance of the populations of *T. dasyliiriifolia* was determined in two plant communities; at the Izotal, *Beaucarnea gracilis* trees are the main host, this tree has branches and can measure up to 7 m high and a 5 m wide, and at Cardonal plant community, epiphytes were located at the columnar cacti *Cephalocereus columna trajani*, where epiphytes were restricted to the un-branched columnar morphology of the cactus, which measure 10-15 m in height. A plant population census was obtained all epiphytes were registered, measured in its base and height, location in height according to the host as well as their orientation, particularly for *Beaucarnea gracilis* tree the canopy was divided in five strata to enable work.

Plant population individuals of *Tillandsia dasyliiriifolia* as well as the other two *Tillandsia* species found, in both plant communities Izotal and Cardonal, were classified in the following categories: mother plants, young individuals, plantlets from vegetative propagation and seedlings from *in situ* germination.

At the *Beaucarnea gracilis* trees, the three *Tillandsia* species are established on preferential strata *Tillandsia dasyliiriifolia* and *Tillandsia califanii* are located in the lower three strata with 93% of its populations with few individuals in the upper two strata; *Tillandsia recurvata* in the two lower strata never in the superior strata and located mainly at the centre of the phorophyte. Similarly these species showed an evident spatial orientations: 53% of *Tillandsia dasyliiriifolia* is oriented to the south (SW , SE); *Tillandsia califanii* in a 58% oriented to the north (NW, NE) and 68% of *Tillandsia recurvata* to the west: (NW, SW) nevertheless it occupies the lower strata on *Beaucarnea gracilis*, not affecting the distribution of the other two species.

At the Cardonal *Tillandsia dasyliiriifolia*, is located apparently more exposed to solar radiation, there are no phorophyte leaves to protect them; its establishment is oriented preferentially to the lesser light irradiance, where the woolly pseudocephalio of the columnar cactus grows, to the NW.

Tillandsia

dasyliiriifolia is a monocarpic, semelparous plant, which has a spike that contains thousands of seeds dispersed by wind. The plant energy is advocated to this effort, but also produces asexual shoots within its base, just before the reproductive event, such plantlets are maintained after the death of the mother plant. The seeds present coma hairs, that measure 4 mm. Flowers are produced and pollinated during May, and its capsules mature nine months later, in order to be liberated in February, the nearest rainy season is 4 months later.

Germination bioassays determine that seeds are positive photoblastic, light promotes its germination in a higher percentage, the relative humidity must be abundant without the necessity to consider additional nutritional elements that might enhance its germination, the presence of salts might inhibit its germination and seedling survival. All of these aspects were observed in laboratory conditions, germination *in situ* was not observed, although seedlings measuring 0.3 - 1.5 cm, were growing within the infructescence spike. A comparative study was done with *T. califanii* a sympatric endemic species which has a low seed viability, indistinctive photoblastic seeds, a highly damaged embryo, which contributed to low germination and survival, thus resulting a vulnerable specie.

The histological study of *T. dasyliiriifolia*, shows different adaptations of this specie to the harsh semiarid environment where it grows: scaly trichomes, cutinized epidermis, esclerenchymatous hypodermis, sunken stomata; the mesophyll formed by parenchima cells with large vacuole that occupy most of the cellular lumen and peripheral chloroplasts; interfascicular aerenchyma which suggest a physiological behaviour of photosynthetic CAM metabolism; the presence of a vascular bundle surrounded by perivascular fibers, a water control and the vaina and mesophyll cells a C₄ photosynthetic mechanism. These last anatomical characteristics together with the diurnal and nocturnal take of CO₂ clearly suggest a hybrid photosynthetic mechanism CAM-C₄.

The present work show the relevance of the epiphytes as an important form of life which generally are not considered within the plant communities. It contributes as well with knowledge about the ecophysiology of this species which allow to understand the establishment and survival of the plant population of *Tillandsia dasyliiriifolia* within the Zapotitlán Valley and remark that the conservation of epiphytes depend on the survival of its phorophytes. Epiphytes can be conserved while their selected phorophytes through its life history are maintained standing up, an event that its not casual and its relationship yet, little studied.

INTRODUCCION



Existen alrededor de 20,000 a 25,000 especies de epífitas vasculares (Benzing, 1990), las cuales se encuentran principalmente en los trópicos y pueden encontrarse en muchas familias tanto de helechos, como de gimnospermas y angiospermas. Sin embargo es en el grupo de las monocotiledóneas donde se concentra el 80% de éstas (Kress, 1989). Su característica principal es que crecen sobre otras plantas, y esto puede ocurrir desde el dosel inferior hasta la periferia de las puntas de las copas de los árboles dando como resultado el que las epífitas pueden habitar en sitios donde las características ambientales son muy variadas desde el punto de vista de la ecología fisiológica (Zotz y Hietz , 2001).

A pesar de que en años recientes se han hecho una gran cantidad de estudios sobre aspectos generales de la fisiología ecológica de las epífitas vasculares (Zotz y Andrade 1998; Zotz y Thomas, 1999; Zotz y Hietz, 2001; Zotz et al., 2001; Crayn et al., 2004) aún falta mucho por estudiar, entre ellos los aspectos de su demografía que permitan llegar a un entendimiento de los factores que limitan el crecimiento, desarrollo y sobrevivencia de éstas y de las comunidades donde crecen.

Los estudios sobre la ecofisiología de las epífitas, se han basado principalmente en aspectos relacionados con la pérdida de agua, debido a que su posibilidad de desarrollo y sobrevivencia dependen de las características relacionadas con el estrés hídrico, así como de condiciones consideradas como de mayor exposición a las condiciones medio ambientales como de luz y temperatura (Martin, 1994; Lüttge, 1997; Zotz y Andrade 1998; Benzing 2000). Otros dos aspectos que

se han estudiado son la baja disponibilidad de nutrimentos e irradiación solar (Benzing 1990, 2000; Nadkarni y Matelson, 1992). Algunos campos que falta ampliar son la inestabilidad de los sustratos, las limitaciones de la dispersión, la competencia, la herbivoría y la variabilidad inter e intra-específica (Zotz et al., 2001; Zotz y Hietz, 2001; Winkler et al., 2005) así como los aspectos de la demografía donde se trate de correlacionar la ecofisiología con el tamaño de las plantas (Schmidt y Zotz, 2001; Zotz et al., 2001).

La familia Bromeliaceae.

Las Bromeliaceae constituyen una familia de monocotiledóneas principalmente Americanas con una sola especie en África (*Pitcairnia feliciana*). Su distribución es Neotropical, representan una de las familias más grandes, constituida por 2,885 especies en 56 géneros (Luther, 2002).

Debido a sus relaciones evolutivas entre la flor, estructuras reproductivas y cuerpo vegetativo se encuentra dividida en tres subfamilias: Pitcairnioideae, Tillandsioideae y Bromelioideae. También existen algunas diferencias en cuanto a su forma de crecimiento, la primera es generalmente terrestre, mientras que las Tillandsioideae son generalmente epífitas y las Bromelioideae presentan ambas formas biológicas (Dahlgren et al., 1985)

La familia Bromeliaceae presenta un excelente ejemplo de radiación adaptativa ya que contiene tanto formas de vida epífitas como terrestres que se encuentran adaptadas a muy diversos habitats (Benzing, 2000). Estas plantas Pueden vivir tanto en ambientes húmedos, como son los bosques lluviosos hasta en las zonas semiáridas y áridas, y se pueden encontrar desde el nivel del mar hasta más de 4,000 msnm, donde quedan completamente expuestas a la radiación solar o por debajo del dosel en los bosques húmedos, secos o templados (Kress, 1986). A diferencia de lo que ocurre en los bosques y selvas húmedas, donde el número de epífitas por área es impresionante (del orden de los cientos) así como su variabilidad, en las zonas áridas el número de especies, va de una a tres y se

considera como una regla el que donde hay baja abundancia de epífitas, el número de especies es bajo (Nieder et al., 1999).

Las Bromeliaceae tienen un amplio rango de distribución, se encuentran principalmente en hábitat montañoso en un número de árboles tan amplio como la misma flora arbórea e incluso pueden encontrarse en objetos como los cables de luz y teléfono. Sin embargo, dentro de este grupo, puede llegar a haber una alta especificidad entre la planta y su forofito, siendo así su distribución específica. Un mismo árbol puede albergar hasta 107 diferentes especies de epífitas (Benzing, 2000) variando así mismo su abundancia (Nieder et al., 1999); también puede existir una distribución no aleatoria en diferentes partes del árbol (Benzing, 2000) o bien específica (García Suárez et al., 2003). Esta abundancia depende en gran parte de la disponibilidad de un sustrato y espacio adecuado, además de una altura determinada. Así mismo, la variabilidad de diferentes familias cambia dependiendo del hábitat, el árbol o forofito, la estratificación vertical, la distribución horizontal e incluso el grosor de las ramas sobre las que se establecen (Benzing, 1990; Chase, 1987; Johansson, 1974). También puede ocurrir un traslape del nicho, aunque pueden existir preferencias como resultado de aspectos ecofisiológicos existentes (Hietz y Hietz-Seifert, 1995 a,b). La altura preferencial puede estar basada en aspectos de fisiología y adaptaciones mecánicas propias de las especies como en el género *Tillandsia*, tanto en sus formas de tanque o atmosféricas (García Suárez et al., 2003).

Es así que la diversificación en la familia Bromeliaceae ha estado relacionada con diferentes aspectos que se han considerado innovadores, como son: las formas “rosetófilas” cuyos tanques pueden almacenar agua y nutrimentos; las características de su epidermis con tricomas absorbentes; la forma de conservación del agua en sus tejidos, así como la presencia de un metabolismo fotosintético, el metabolismo del ácido crasuláceo (CAM) (Crayn et al., 2004). Dentro de la familia existe otro grupo de especies consideradas como “atmosféricas” que no forman tanque pero que también absorben los nutrimentos

con tricomas multicelulares obteniendo los nutrimentos provenientes del agua de lluvia y de la lixiviación de ramas y de hojas de los forofitos donde habitan (Benzing, 1980).

Las especies epífitas dentro de las Bromeliaceae presentan una historia de vida sometida a fuerzas de selección particulares, como su distribución asociada a los forofitos, donde intervienen rasgos tales como la arquitectura del árbol, grosor de las ramas, el tipo de sustrato y la estabilidad de las cortezas, entre otros ((Hietz y Hietz Siefert, 1995a; Johansson, 1974). Los parches que pueden llegar a formar varían desde hiper-dispersión en los árboles tropicales hasta una discontinuidad y arreglos en los árboles hospederos. Los factores tanto bióticos como abióticos determinan sus posibilidades de sobrevivencia; las poblaciones pueden ser afectadas por una alta mortalidad durante su establecimiento, o bien por la presencia de disturbios como la caída de ramas y fragmentos de corteza, que pueden ser causados por exceso de carga de epífitas, o en ocasiones desastres naturales (Benzing, 1979;1981;1990; Castro et al., 1999; Nadkarni, 1986; Nadkarni y Matelson, 1992). Los aspectos abióticos importantes que afectan su establecimiento, crecimiento y desarrollo son la falta de agua (sequía) y los recursos de nutrimentos, que también pueden afectar su fecundidad (Benzing, 1978).

En la copa de los árboles las epifitas deben tener la capacidad de dispersión aérea de sus semillas, de sostén, de poder realizar la fijación del carbono y mantener humedad y nutrimentos que les permita mantenerse; factores que cada especie de epífita ha resuelto de diferente manera. Ejemplos de ello, en particular en la familia Bromeliaceae, son la presencia de órganos de almacenamiento, raíces o estructuras especializadas en la captura de nutrimentos, que también ayudan a evitar la sequía (Zotz y Andrade, 1998; Zotz y Thomas, 1999). Son raras las especies epífitas carnívoras pero si abundantes las mirmecófilas (Benzing, 1970; 1986). La tasa de crecimiento para la familia Bromeliaceae es lenta como sucede para otras especies tolerantes al estrés (Benzing, 1990;

Zotz et al., 2001).

Cerca del 50 % de las especies pertenecientes a la familia Bromeliaceae son epífitas, y parece ser que la transición evolutiva de sus formas terrestres a epífitas se debe a la presencia de los tricomas absorbentes que presentan en la epidermis y que son característica principal de la familia (Benzing, 2000).

Las adaptaciones de las Bromeliaceae epífitas- xerófitas (captura de agua, nutrición, fotosíntesis y xeromorfología).

Las Bromeliaceae epífitas como otras epífitas, han tenido que adaptar diferentes mecanismos estructurales y fisiológicos (Gentry y Dodson 1987) Los hospederos fueron previamente definidos por Benzing (1981), como un microhabitat carente de agua y nutrientes que llevaron a las epífitas a tener una serie de adaptaciones que promuevan el uso eficiente de agua y de nutrientes. Así dentro de las adaptaciones se incluyen estrategias para la captura de agua y nutrimentos, fotosíntesis y en particular en las zonas áridas, la xeromorfología.

El agua

En el ambiente epífito, la escasez de agua es el factor abiótico considerado como recurso limitante, tanto de especies que habitan ambientes méxicos como xéricos. Benzing (1986), clasificó a las epífitas en base a la disponibilidad del agua en dos grupos, las consideradas como continuamente abastecidas y las abastecidas por pulso. Las primeras comprenden a las Bromeliaceae con tanques o bien especies que presentan raíces que pueden abastecerse de humedad. Las segundas se denominan como las especies de corteza, y donde la escasez de agua por períodos cortos puede causar un estrés hídrico, dentro de este grupo se contemplan Bromeliaceae xeromórficas en particular especies del género *Tillandsia*.

Los estudios sobre la relación hídrica en epífitas se han hecho en especies abastecidas por pulso, es decir que son abastecidas por lluvias esporádicas a lo largo del año o por el rocío de la mañana y que carecen de alguna estructura de almacenado del agua; en ellas se han medido las causas y efectos de la pérdida de agua sin tratar los mecanismos de captura de agua (Benzing 2000). Diez años antes, Benzing (1990), observaba que para estas plantas la captura de agua después de una lluvia ocasional puede ser de relevancia para su balance hídrico. Por otro lado, estudios en plantas continuamente abastecidas, donde el agua no es limitante tanto por factores ambientales o por la presencia de alguna estructura de almacenaje de agua, prueban la eficiencia de los tanques para la conservación del agua y reservorio de nutrimentos en especies de Bromeliaceae epífitas donde se demuestra la relación directa e indirecta entre la eficiencia de uso de agua y el tamaño de la planta (Zotz y Thomas, 1999; Schmidt y Zotz, 2001).

Aspectos morfo-anatómicos (xeromorfología).

Las epífitas que se consideran como formas abastecidas por pulsos presentan reducciones muy particulares sobre todo en las familias Bromeliaceae (Benzing y Ott, 1981). Para los géneros *Tillandsia* y *Vriesea* (Bromeliaceae), el desarrollo de la raíz está prácticamente suprimido; paralelo a esto existe una modificación en sus tallos, los cuales disminuyen su capacidad de almacenamiento y desarrollan derivados epidérmicos en sus hojas (Benzing, 1976). Así, con la presencia de tricomas, no requieren de otro órgano para la absorción de agua y al mismo tiempo incrementa la reflexión de la luz. Particularmente, las formas atmosféricas de *Tillandsia* se encuentran totalmente cubiertas de escamas, con escudo amplio y ala flexible (Benzing, 1976). En cambio, las *Tillandsia* con tanques, cuyas hojas son aplanadas y delgadas presentan más esparcidos sus tricomas foliares con sus escudos adelgazados. La pérdida de diferenciación axial se observa exclusivamente en las epífitas abastecidas por pulso, este tipo de plantas no realizan una división entre las funciones metabólicas de los órganos de tallo y raíz

como ocurre habitualmente para las plantas habitantes del suelo sino que el almacenamiento, absorción de nutrimentos y la fotosíntesis se realizan todas en las hojas y la raíz funciona de anclaje (Benzing y Ott, 1981; Benzing et al., 1983).

Algunos aspectos anatómicos de relevancia para la conservación del agua en especies de *Tillandsia* son que la epidermis de sus hojas es lignificada, puede presentar cutícula gruesa, estomas hundidos y por debajo de la epidermis una hipodermis que puede estar constituida de varias capas celulares; en el tejido del mesófilo se presentan tejido de aerénquima en contacto con sus estomas (Tomilson, 1969; Benzing, 1976; Souza y Neves, 1996).

Nutrición

Las Bromeliaceae epífitas poseen raíces que sirven de anclaje y no de absorción de agua y nutrimentos, dependen para su nutrición de la absorción a través sus hojas y/o tanques de almacenamiento siendo las especies atmosféricas las especies que se consideran que poseen las estructuras más avanzadas en la absorción a través de sus tricomas, estas especies han demostrado que dependen de los nutrimentos inorgánicos disueltos en la lluvia y en la neblina y no de minerales provenientes de suelo y representan la adaptación más extrema de anatomía y fisiología al biotopo epifítico (Benzing, 1986; Benzing y Renfrow, 1980).

A diferencia de esto, las especies méxicas pueden ser al menos parcialmente independientes de la toma de minerales, además de que son especies con tanque de almacenamiento que les permite capturar y tener acceso a los nutrimentos almacenados, provenientes de la lixiviación, y de minerales y materia orgánicas que queden dentro de ellos (Nadkarni y Primack, 1989; Benzing, 1990).

Fotosíntesis

Además de sus especializaciones morfológicas, parte del éxito de las epífitas de la familia Bromeliaceae que habitan ambientes áridos es la toma de CO₂ nocturna,

conocido como el mecanismo fotosintético del metabolismo del ácido crasuláceo (CAM), el mecanismo más común entre las epífitas (Crayn et al., 2004). Los reportes que se tienen sobre la fotosíntesis en Bromeliaceae indican que presentan una fotosíntesis CAM, C₃-CAM y C₃, no se conoce reportes con respecto al mecanismo fotosintético C₄ (Griffiths y Smith, 1983; Martin, 1994; Maxwell et al., 1994; Benzing, 2000; Lüttge, 2004). Las plantas más resistentes a la sequía operan generalmente con ciclo CAM, por lo general son plantas perennes, suculentas o coriáceas (Benzing, 1990). Los primeros estudios en fotosíntesis realizados en la familia Bromeliaceae se iniciaron con Medina (1974); Medina y Throughton (1974), Medina et al. (1977) y con *Tillandsia* fueron los trabajos de Martin et al. (1981), Martin y Siedow (1981), Martin y Adams (1987), Lüttge (1987), Martin y Schmitt (1989). El mecanismo fotosintético CAM es considerado como una modificación ecofisiológica de la adquisición del carbón el cual ha sido recientemente revisado dentro del grupo de las Bromeliaceae (Crayn et al., 2004; Lüttge, 2004). En una planta CAM típica, el CO₂ es fijado durante la noche y temporalmente almacenado vía la fijación por la fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEP_C), en forma de ácido málico en las vacuolas de las células del mesófilo. Durante el período de luz, el ácido málico es liberado de la vacuola y decarboxilado y el CO₂ liberado es incorporado a la vía fotosintética del ciclo Calvin-Benson; separando así, fisiológicamente la fijación del CO₂ con respecto de las plantas C₃ y C₄ (Kluge y Ting, 1978; Osmond, 1978; Winter y Smith, 1996).

La reproducción en Bromeliaceae epífitas.

El epifitismo es una forma de vida que requiere sistemas especializados en la reproducción tanto vegetativa como germinativa. La propagación vegetativa para las especies de Bromeliaceae es produciendo brotes que generalmente tienen un crecimiento acelerado y maduran en pocos años (Benzing, 1980; 2000)

Se considera que *Tillandsia* presenta semelparidad, florecen sólo una vez. Como grupo tienden a ser alógamas, algunas son autocompatibles como el caso de *T. recurvata*, pero otras requieren forzosamente el entrecruzamiento para poder

producir cápsulas como *T. usneoides* (Isley, 1987). El estudio de Soltis et al., (1987) revela la existencia de homocigosis en las poblaciones de *T. recurvata* y *T. ionantha*.

La polinización en el género puede darse por diferentes vectores, el grupo presenta una variedad de adaptaciones apropiadas para diferentes polinizadores que pueden ser por vertebrados como aves ó murciélagos e insectos como abejas, palomillas o mariposas nocturnas, que son los vectores comunes (Ackerman, 1986; Gardner, 1986a; Isley, 1987). Los sistemas reproductivos que involucran las estrategias de polinización y compatibilidad genética señalan que para *Tillandsia* varían siendo el entrecruzamiento por ruta de forrajeo la principal estrategia (Siquiera y Machado, 2001) y dentro de la compatibilidad genética puede haber autogamia en *T. paucifolia* (Benzing, 1990) cleistogamia para *T. capillaris* (Gilmartin y Brown, 1985) geitonogamia como ocurre para *T. recurvata*, *T. biflora* (Isley 1987). Las flores presentan largas corolas tubulares, con néctar, estambres y estigma extendidos fuera de la corola. Algunos ejemplos de estas observaciones son: las características florales podrían ser utilizadas por aves como colibríes (Benzing, 1980) así como de otras especies de aves como en *T. ionantha*, *T. brachycaulos*, *T. bulbosa* (Isley, 1987; Siquiera y Machado, 2001). Sin embargo se ha documentado que los visitantes más frecuentes en *Tillandsia* son las palomillas como ocurre para *T. straminea*, *T. duratii* y *T. xiphioides* y polinizadas por palomillas nocturnas especies con grandes flores blancas y fragancia como *T. dodsoni* y *T. nartheocoides* (Isley, 1987) y por abejas en *T. deppeana* (Gardner, 1986a); para otras especies de Tillandsioideae como en *Vriesea*, cuyas flores presentan olor desagradable y abundante néctar, son visitada por murciélagos (Sazima et al., 1995).

En el género, la mayoría de las especies florecen en invierno, permitiendo su crecimiento cuando los días son claros y cálidos. La hibridación puede ocurrir entre especies simpátricas a pesar de la diferencia en el color de su flor y la fenología de las especies (Gardner, 1984).

Los frutos para las bromélias epífitas pueden ser capsulares dehiscentes, con semillas pequeñas y plumosas que son dispersadas por el viento, es decir por anemocoría (Benzing, 1987) o bien bayas, frutos no dehiscentes cuyas semillas son dispersadas por aves (Gentry y Dodson, 1987) así como también por mamíferos e invertebrados (Benzing, 1990).

La germinación y el establecimiento en el hospedero.

La fisiología de semillas en epífitas no ha sido estudiada intensamente excepto para algunas bromelias muy conocidas (Benzing, 1980) lo cual representa un reto en nuestra investigación. La germinación *in vitro* surge como una posibilidad para la rápida propagación no sólo de especies con valor comercial, sino también como un recurso para la preservación y conservación de especies que son parte de la riqueza florística de México, además de ser un instrumento para facilitar el estudio de los procesos ecológicos y fisiológicos relacionados con dichas especies.

La mayoría de las Bromeliaceae requieren de luz para su germinación (Smith y Downs, 1974; Benzing, 1990). La sombra de las hojas del forofito pueden hacer que la luz emitida a través de ellas sea de 700 –750 nm de longitud de onda, permaneciendo las semillas fotoblásticas positivas en estado latente debido a ello (Mayer y Poljakoff-Mayber, 1975).

Las semillas de las Bromeliaceae como las de otras epífitas, requieren encontrar sustratos y microclimas adecuados para germinar y que las plántulas resultantes puedan sobrevivir en estos sitios. Son escasos los estudios sobre el contenido de sus semillas, se ha reportado un alto contenido nutritivo almacenado en semillas provenientes de especies de bromélias atmosféricas (Benzing y Davidson, 1979).

La estabilidad de la corteza y su textura son factores determinantes en la selección del hospedero. Los árboles con superficies lisas, pero estables pueden fallar como hospederos, simplemente porque los pelos coma de las semillas encuentran muy pocas irregularidades que permitan su fijación y establecimiento.

Esto es de importancia ya que una vez que germinan las semillas de *Tillandsia* permanecen sin raíz durante cuatro o seis meses (Benzing, 1973).

La lixiviación es otro determinante del hospedero. Las epífitas sin tanques dependen de los nutrientes provenientes de la lixiviación, de lo que logran interceptar que escurre de las hojas, ramas y tronco del forofito. Hay árboles que son susceptibles a la pérdida de minerales por lixiviación y enriquecen el agua que les llega a las epífitas habitantes del dosel, otros retienen sus nutrientes foliares más fuertemente, cuando se retienen las sales de este modo, el árbol se convierte en menos habitable para las epífitas, como ocurre en *T. usenoides* con su hospedero *Taxodium distichum* (Schelsinger y Marks, 1977).

La contribución de las comunidades epífitas a la transferencia de nutrientes es poco entendida. Los nutrientes provenientes de epífitas muertas son liberadas a los ciclos nutricionales de la vegetación terrestre mediante tres mecanismos ya que los grupos de epífitas sobre las ramas y troncos de los árboles no permiten la llegada de los nutrimentos hacia las raíces del hospedero (Nadkarni, 1986; Nadkarni y Matelson, 1992) i) las epífitas son lixiviadas por la precipitación, ii) los nutrimentos son transferidos al suelo del bosque vía escurrimiento de tronco y caída directa y iii) la captación directa del hospedero mediante la absorción de los nutrientes atmosféricos o cercanos a las epífitas por medio de raíces adventicias denominadas “raíces del dosel” que se encuentran debajo o cercanas a las epífitas (Nadkarni, 1981). Es así que en el árbol, las epífitas localizadas en la parte superior del dosel, reciben sales minerales disueltas provenientes de la precipitación pluvial y de las partículas aéreas; más abajo también se acumula epiflora que acumula nutrientes minerales que previamente sirvieron al hospedero y todos estos minerales pueden ser lixiviados de la vegetación adyacente o bien cuando las bromeliáceas tienen tanque, se presenta también material en descomposición atrapado entre las hojas de sus tanques y los nutrientes secuestrados de esta manera no estarán disponibles para el reciclamiento y uso del hospedero (Benzing, 1979). Las causas por las que las epífitas pueden caer

al suelo del bosque son: senescencia, viento, la presencia de aves y mamíferos y la ruptura de las ramas que las soportan (Nadkarni y Primak, 1989).

Las epífitas vasculares han sido consideradas como no específicas en cuanto a preferencia de hospedero y con poco o nulo impacto en ellos, sin embargo en algunos casos los árboles son afectados por su carga de epifitas. Benzing (1978) considera que las epífitas pueden ser capaces de producir sombra y causar incluso la ruptura de las ramas de sus forofitos. Los árboles considerados como “infestados” pueden sufrir o estar en stress nutricional debido a las epífitas sobre ellos. Benzing y Seeman (1978) han sugerido la terminología de parasitismo convencional, epi-parasitismo, inductor de estrés nutricional o piratería nutricional (Benzing, 1978; 1979) en la supuesta relación comensal de la relación epífita-hospedero. El papel que las epifitas juegan en la ecología en el contexto de parasitismo o nutrición pirata, han motivado su estudio o al menos la consideración de la posibilidad de que las bromélias reducen el vigor del árbol hospedero, conforme su número aumenta. Siendo entonces factible que árboles que habitan suelos pobres pueden ser afectados con el tiempo debido a su excesiva carga de epífitas (Benzing y Davidson 1979).

La relación entre la epífita y su hospedero es mucho más estrecha que la de un simple soporte. En realidad se han hecho observaciones de la preferencia de hospedero en bromélias en donde algunas especies maderables son más adecuadas como soporte que otras. Incluso si se toma como indicador la presencia preferencial, en ocasiones algunos sitios de los árboles hospederos son más adecuados que otras para ciertas epifitas. Así la selección de hospedero y la distribución de las epífitas en la copa del árbol pueden ser altamente específicas (García-Suárez et al., 2003).

Una vez que las semillas germinan, su establecimiento y posterior crecimiento es una empresa difícil. Hay observaciones en campo del establecimiento y sobrevivencia de algunas plántulas observadas *in situ*. Benzing (1978) observó que la mortalidad de las plántulas de *Tillandsia circinnata* es prácticamente total, a

pesar de que las semillas fueron germinadas bajo condiciones de laboratorio y alcanzando sólo entre tres a seis meses de edad en el campo, mueren en unas semanas. En el mismo estudio, demostró que para su establecimiento y posterior sobrevivencia las plántulas requieren de humedad, entre otros factores.

Mientras algunos árboles presentan gran cantidad de epífitas en sus ramas, otros carecen totalmente de ellas. Probablemente, presiones de selección han llevado a respuestas adaptativas en algunos casos, como la alelopatía. Algunos árboles producen en su corteza sustancias con fenoles que son capaces de inhibir la germinación y establecimiento de epífitas. Las epífitas son potencialmente más vulnerables a la alelopatía que las plantas terrestres (Benzing, 1978). En los sitios terrestres, la dilución la absorción física y la degradación microbiana disminuyen grandemente el posible daño que pudiesen causar los químicos orgánicos producidos por un hospedero. No ocurre así para una epífita que puede recibir directo los efectos de las sustancias producidas en el hospedero.

El género *Tillandsia* en zonas áridas.

El género *Tillandsia* prácticamente pertenece a América Latina, la mayoría de sus especies se encuentran principalmente en ambientes mésicos, aunque las especies mas conocidas se encuentran en ambientes xéricos (Isley, 1987). Son consideradas como las verdaderas plantas de aire, ya que toman el agua, el CO₂ y el material orgánico prácticamente de éste.

México no sólo es un centro evolutivo de cactáceas y otras especies suculentas sino también del género *Tillandsia*. La gran diversidad de especies epífitas adaptadas a la sequía en México parece ser el resultado de un extensivo aislamiento de los bosques secos y semi-secos que ha causado la radiación de estos grupos (Hietz y Hietz-Seifert, 1995b).

Las *Tillandsia* que habitan en zonas áridas, son especies consideradas como Bromeliaceae tolerantes de luz y xeromórficas, resistentes a la sequía; los árboles que llegasen a tener un denso follaje interceptarían el sol o la lluvia que permitiesen su establecimiento (Benzing, 1986). Son especies consideradas como las más tolerantes al estrés de todas las plantas vasculares. Tienen una alta eficiencia de economía del agua, estructuras de sostén bien desarrolladas y la capacidad de obtener nutrientes minerales de recursos muy diluidos como es el agua de lluvia. Para colonizar nuevos hospederos utilizan las corrientes de aire o bien aves como agentes dispersantes (Benzing y Renfrow, 1980).

Como otras epífitas *Tillandsia* habita ambientes cuyas condiciones pueden ser estresantes, ya que soportan severas condiciones externas tanto para su germinación como para su establecimiento. Compiten por el espacio, fuerza de gravedad, con eventos climáticos: exposición a cortezas que se deshidratan más que los suelos, que se enfrían o se calientan muy rápido, los efectos del aire alrededor de ellas, la altura del dosel donde ocurren cambios y fluctuaciones rápidas de temperatura así como también cualquier evento que le suceda a su hospedero. La presencia de minerales es escasa y su absorción se lleva cuando los brotes están húmedos o inmediatamente después de las lluvias (Benzing, 1973; Benzing y Renfrow, 1974).

Especies de *Tillandsia* en el Valle de Zapotitlán, Puebla.

El Valle de Zapotitlán, se sitúa en la región florística de Tehuacán Cuicatlán, en el estado de Puebla, es considerado como uno de los centros importantes de diversidad en México por la International Union for the Conservation Nature (IUCN), formando parte de la región xerofítica mexicana (Rzedowski, 1978; Dávila et al., 1993; 1995).

En el Valle de Zapotitlán existen varias especies del género *Tillandsia* como bromélias epífitas: *T. atroviridipetala*, *T. circinatoides*, *T. dasyliriifolia*, *T.*

makoyana, *T. califanni* asociadas a cierto tipos de forofitos, algunas con selección altamente específicas y otras como *T. recurvata* que puede establecerse en diferentes forofitos (García Suárez et al., 2003).

Meyran (1973) por su parte incluye en su guía de cactus y suculentas del Valle de Tehuacán a: *T. recurvata* y *T. atroviridipetala*. Dávila et al. (1993) considera 11 especies para el Valle y 25 especies para el área de Tehuacán- Cuicatlán, *Tillandsia aff. macdougalii* es considerada por Osorio- Beristain et al. (1996), siendo de todas ellas *T. califanii* la única especie endémica (Dávila et al., 1995).

Gardner (1986b) describió las especies de *Tillandsia* provenientes de un ambiente semiárido como el del Valle de Zapotitlán, en varios grupos como plantas xerófitas epífitas o saxícolas caulescentes o acaulescentes basada en caracteres florales siendo *Tillandsia califanii*, *T. circinnatoides*, *T. pueblensis*, *T. schatzlii*, pertenecientes al subgrupo 7 del grupo I y dentro del grupo II especies como *T. dasyliiriifolia* y *T. makoyana*.

De todas estas particularmente nos interesamos en *Tillandsia dasyliiriifolia* (Fig. 1) a fin de estudiar algunos aspectos de su ecofisiología y sobrevivencia, considerando los patrones de distribución que presentan en la República Mexicana: *T. dasyliiriifolia* Baker puede habitar tanto ambientes xéricos como mésicos y desde el Sur de los Estados Unidos hasta Suramérica (Zimmerman y Olmsted, 1992); ya en el estudio se observaron dos especies más que comparten los mismo forofitos que esta especie . *T. califanii* (Fig. 2) y *T. recurvata* (Fig. 3). *T. califanii* Rauh es una especie endémica para el Valle de Zapotitlán en el sistema Tehuacán-Cuicatlán (Smith y Downs, 1977) y *T. recurvata* (L) L exhibe un patrón de distribución cosmopolita (Smith y Downs, 1977).

Para estas tres especies de epífitas se analizaron tanto aspectos de su biología como de su anatomía y fisiología, además de considerar algunos aspectos de su ecología fisiológica y visualizar su estado poblacional en el Valle.

La situación que presentan las epífitas estudiadas en el Valle muestra que mientras se mantengan en pie los forofitos seleccionados a través de su historia de vida pueden conservarse estas especies, sin embargo, se hace necesario resaltar la importancia que esta forma de vida brinda a la comunidad vegetal.



Figura 1. Inflorescencia de *Tillandsia dasylyriifolia*.



Figura 2. *Tillandsia califanii* desarrollando inflorescencias



Figura 3. *Tillandsia recurvata* en floración en el Valle de Zapotitlán



DESCRIPCION DE LA TESIS

En el presente trabajo se examinó la abundancia de la especie en estudio *Tillandsia dasyliiriifolia*, la composición de las comunidades donde habita, la estructura poblacional en dos comunidades del Valle de Zapotitlán, Puebla: el Cardonal y el Izotal. Se registraron los patrones fenológicos de los forofitos y de la especie en estudio *T. dasyliiriifolia*, y se compara con dos epifitas con las que coexiste *T. califanii* y *T. recurvata*, y se determinaron los patrones espaciales de las especies involucradas., las estrategias reproductivas de la especie., las estrategias de adaptación al medio árido y se aportó la descripción de la anatomía y mecanismo fotosintético utilizado por *Tillandsia dasyliiriifolia*.

Esta Tesis, esta basada en dos artículos y tres manuscritos, en los que se abarcan diferentes aspectos de la ecofisiología de *Tillandsia dasyliiriifolia* así como también de dos especies de *Tillandsia*: *T. califanii* y *T. recurvata* y de sus forofitos en el Valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla.

- García-Suárez, M.D., Rico-Gray, V., and H. Serrano.2003. Distribution and Abundance of *Tillandsia* spp. (Bromeliaceae) in the Zapotitlán Valley, Puebla, México. *Plant Ecology* 166: 207-215.
- García-Suárez, M.D., Rico-Gray, V, Laguna Hernández, G, Collazo Ortega, M. and H. Serrano. Germination and establishment of *Tillandsia dasyliiriifolia* Baker (Bromeliaceae) in the Zapotitlán Valley, Puebla, Mexico. (Manuscrito).
- García-Suárez, M.D., Rico-Gray, V, Molina-Aceves, N. and H. Serrano. 2006. *In vitro* Germination and clonal propagation of the endemic *Tillandsia califanii* Rauh (Bromeliaceae) from Mexico. *Selbyana* 27(1): 54-59.
- García-Suárez, M.D., Fraile-Ortega, M.E., Laguna-Hernández, G., Collazo Ortega, M. y H. Serrano. Morfología y anatomía de tres especies de *Tillandsia* (Bromeliaceae) en el valle de Zapotitlán, Puebla, México. (Manuscrito).
- García Suárez, M.D., Collazo Ortega M., Laguna Hernández, G., Rico Gray, V. San Miguel , R., Larqué Saavedra, A. and H. Serrano. Ecophysiology of *Tillandsia dasyliiriifolia* Baker. (Bromeliaceae) Photosynthesinthetic pattern. (Manuscrito).

Contenido de esta tesis

Introducción

Se describe al grupo de las epífitas, importancia de las bromeliaceae epífitas, algunas de las adaptaciones que éstas presentan, así como, algunos aspectos sobre su ecofisiología particularmente para especies xéricas como nutrición, factores que evitan la desecación, mecanismos fotosintéticos, biología reproductiva, germinación y establecimiento de sus plántulas. Finalmente se enlista las especies de *Tillandsia* que hay en el Valle de Zapotitlán.

Se señalan los objetivos: general y particulares del presente estudio y se describe la metodología empleada para cubrirlos. Se enlistan los capítulos que conforman esta tesis.

Capítulo I.

Describe el sitio de estudio, el Valle de Zapotitlán, Puebla, cuyas características son las que existen en las zonas áridas y semiáridas, las cuales se caracterizan por su elevada temperatura del aire, marcadas fluctuaciones de ésta durante el día y la noche, baja precipitación y humedad, evaporación rápida y suelos con bajo contenido de nutrimentos orgánicos (Evenari, 1981).

La epífita seleccionada para este estudio, *Tillandsia dasyliriifolia* Baker es una especie de amplia distribución. Se localiza desde el centro de la República Mexicana hasta el norte de El Salvador. Habita generalmente zonas áridas y semiáridas. Existen estudios sobre su taxonomía y distribución (Smith y Downs, 1977) que han contribuido a su conocimiento. Sin embargo sobre su ecofisiología se conoce poco.

En particular el sitio de estudio de las epífitas se dirige hacia las condiciones donde habitan sus hospederos la conservación de éstos les permite mantener sus sobrevivencia ya que les brindan un ambiente particular que afecta su crecimiento y desarrollo.

Capítulo II

Distribución y abundancia de *Tillandsia* spp (Bromeliaceae) en el Valle de Zapotitlán Puebla, publicado como: Distribution and abundance of *Tillandsia* spp (Bromeliaceae) in the Zapotitlán Valley, Puebla, México. *Plant Ecology* 166:207-215 (2003).

Describe el estado poblacional de tres especies de *Tillandsia* (Bromeliaceae) que comparten dos diferentes tipos de comunidades vegetales en el Valle de Zapotitlán, considerando la distribución vertical y orientación espacial en los hospederos y hace una descripción de la estructura de edades para *Tillandsia dasyliiriifolia*.

Capítulo III

En este capítulo se presentan un artículo y un manuscrito relacionados con la propagación germinativa y vegetativa de *Tillandsia dasyliiriifolia* y *Tillandsia califanii*:

Germinación y establecimiento de *Tillandsia dasyliiriifolia* Baker (Bromeliaceae) en el Valle de Zapotitlán, Puebla, México. (manuscrito).

El manuscrito describe la germinación y establecimiento de *Tillandsia dasyliiriifolia*. La producción de semillas, su germinación en distintas condiciones de luz y escarificación, el crecimiento de las plántulas bajo diferentes medios de cultivo con distintos nutrimentos y en el campo la presencia de plántulas que crecen sobre las espigas de la inflorescencia.

Germinación *in vitro* y propagación clonal de la especie endémica *Tillandsia califanii* Rauh. (Bromeliaceae) México, publicado como: *In vitro* germination and

clonal propagation of the endemic species *Tillandsia califanii* Rauh. (Bromeliaceae) México. Selbyana 27 (1):54-59. (2006).

Se aprecian algunos aspectos relevantes de la propagación clonal y germinativa de *Tillandsia califanii* especie endémica, que presenta disminución en la viabilidad de sus semillas y se describe la posibilidad de permanecer en las comunidades vegetales donde crecen.

Capítulo IV

En este capítulo se presentan dos manuscritos que abordan las estrategias de mecanismos estructurales y fisiológicos que las epífitas en general han tenido que adaptar cuando habitan en un ambiente árido, además de la altura de los árboles hospederos; esto incluye estrategias para la toma de agua y nutrición, fotosíntesis.

Morfología y anatomía de tres especies de *Tillandsia* (Bromeliaceae) en el Valle de Zapotitlán, Puebla, México. (manuscrito)

Se hace la descripción de las adaptaciones anatómicas y morfológicas de tres Bromeliaceae epífitas pertenecientes al género *Tillandsia*. Estas epífitas sobreviven en un ambiente aéreo, arbóreo semiárido, sin la presencia de raíces funcionales, presentan dos morfologías externas: de tanque y atmosféricas. Se describen los diferentes tejidos que constituyen la hoja y la raíz.

Ecofisiología de *Tillandsia dasyliiriifolia* Baker. (Bromeliaceae). Patrón fotosintético: Ecophysiology of *Tillandsia dasyliiriifolia* Baker. (Bromeliaceae). Photosynthetic pattern. (manuscrito).

La investigación explora la adaptación de *Tillandsia dasyliiriifolia* a un ambiente estresante xérico. Las adaptaciones incluyen respuestas bioquímicas, fisiológicas, anatómicas y morfológicas. La ecofisiología de esta planta presenta un mecanismo fotosintético aparentemente híbrido entre una planta C₄-CAM.

Capítulo V

Conclusión y consideraciones finales.

Se integra sobre los resultados y conclusiones parciales y se da una conclusión general sobre la ecofisiología de *Tillandsia dasylyriifolia* en el Valle de Zapotitlán, Puebla.

Referencias

Se reportan las citas en cada capítulo.

OBJETIVO GENERAL

Contribuir al conocimiento de algunos aspectos de la ecofisiología de *Tillandsia dasyliriifolia*, que permitan entender su estructura poblacional en dos comunidades vegetales: Cardonal e Izotal en el Valle de Zapotitlán, Puebla.

OBJETIVOS PARTICULARES:

Registrar los patrones fenológicos del forofito y/o forofitos y de las especies en estudio, así como sus patrones espaciales.

Determinar la distribución y abundancia de las poblaciones de *Tillandsia dasyliriifolia* así como de las especies epífitas con las que comparte forofito.

Determinar estrategias reproductivas de la *Tillandsia dasyliriifolia* y estudiar las características de su germinación en el laboratorio y en el campo, así como las del establecimiento de sus plántulas.

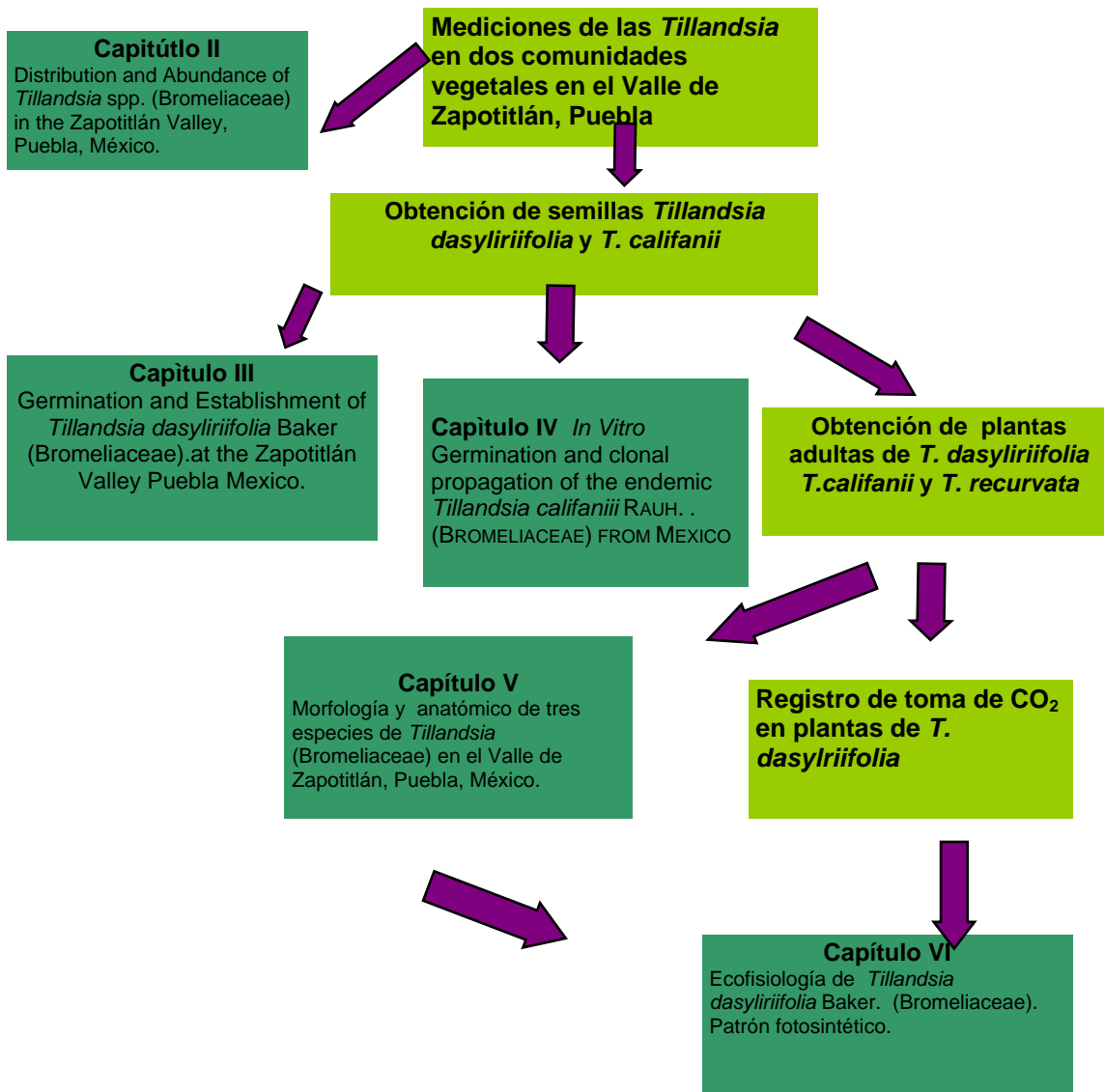
Determinar las estrategias de adaptación al medio árido de *Tillandsia dasyliriifolia*.

Aportar información sobre la anatomía, nutrición, eficiencia de uso de agua y mecanismo fotosintético utilizado por *Tillandsia dasyliriifolia*.



METODOLOGIA

En cada uno de los capítulos presentados en ésta tesis, se describe la metodología particular, tratando de dar la forma requerida por las revistas científicas especializadas a las que se someterán ó en las que ya han sido publicados. Se presenta un cuadro sinóptico de la obtención general de datos y un resumen de la metodología de los capítulos II a VI.



Capítulo II

Distribution and Abundance of *Tillandsia* spp. (Bromeliaceae) in the Zapotitlán Valley, Puebla, México.

Distribución y Abundancia de *Tillandsia* spp (Bromeliaceae) en el Valle de Zapotitlán, Puebla, México.

Se seleccionaron al azar cinco cuadrantes de 50 m x 50 m en el tipo de comunidad denominado 'Izotal' y se determinó la composición de la vegetación así como los patrones de distribución de todas las plantas perennes. En cada cuadrante, se registraron todas las Bromeliaceae epífitas sobre los árboles de

Beaucarnea gracilis, y aún y cuando algunos individuos de Bromeliaceae se encontraron en otros hospederos, este árbol es su principal forofito. Los árboles de *B. gracilis* se marcaron y se midió el diámetro del tronco de cada árbol y su altura y se dividió el dosel en cinco zonas. Las observaciones se registraron con una persona en el árbol *B. gracilis* y otra en el suelo. A fin de determinar la distribución espacial y la abundancia de las especies de *Tillandsia* seleccionadas se observaron tres aspectos principales: (i) la distancia del centro del hospedero al sitio en la rama donde los individuos de *Tillandsia* se establecieron; (ii) la altura desde el nivel del suelo hasta donde se localizaron las *Tillandsia* en el árbol de *B. gracilis*; y (iii) la orientación de cada *Tillandsia* en relación al hospedero (utilizando brújula Brunton). Se estimó el tamaño de los individuos de *Tillandsia*, midiendo la altura y el diámetro basal (y cuando estuvieron presentes en ramets también se midieron). Las mismas mediciones y observaciones se realizaron en la comunidad denominada como "Cardonal", aunque sólo se realizaron cuatro cuadrantes, y los individuos de *Tillandsia* se localizaron en los cactus columnares *Cephalocereus columna trajani*, *Neobuxbaumia tetetzo*, y sus probables híbridos en esta comunidad no hay individuos presente de *B. gracilis*. Finalmente, se consideró el estatus reproductivo (p.ej. floración, fructificación y el principal modo de reproducción (p.ej., sexual, vegetativo) de las *Tillandsia* estudiadas. A fin de explorar la posibilidad de que las epífitas pueden tener una distribución preferencial en los árboles de *Beaucarnea*, se tomaron los datos de la localización específica de la altura desde el suelo, distancia al centro del árbol y su orientación relativa. Se analizó la distribución y abundancia de las *Tillandsia* después de transformarlas a arco-seno, y se compararon con prueba de X^2 . Las características morfo/métricas (altura, diámetro basal) se compararon utilizando un análisis de regresión lineal. La estructura de edad y la abundancia de *Tillandsia dasyliiifolia* se comparó en ambas comunidades vegetales. Todos los análisis estadísticos se hicieron utilizando el paquete estadístico SAS (SAS, 1987).

CAPITULO III

Germinación y establecimiento de *Tillandsia dasyliiifolia* Baker (Bromeliaceae) en el Valle de Zapotitlán, Puebla, México

Germination and establishment of *Tillandsia dasyliriifolia* Baker (Bromeliaceae) at the Zapotitlán Valley, Puebla, Mexico.

Registro de plantas. En la comunidad vegetal del Izotal, todas las *Tillandsia* que habitan en el árbol hospedero de *Beucarnea gracilis* fueron marcadas, medidas en tamaño, cuantificadas en número y registradas. A lo largo del año se registró la fenología: período de floración y dispersión de semillas.

Las semillas se obtuvieron de cápsulas maduras de diferentes especímenes de *T. dasyliriifolia* colectadas al azar en su población natural, después de la maduración y antes de su dispersión, que se realiza durante el mes de Febrero, en el Valle de Zapotitlán. Las espigas se midieron, las cápsulas se contaron y las semillas fueron medidas así como calculada su producción total por espiga. Las semillas se almacenaron a temperatura ambiente en bolsas negras en el laboratorio durante un año antes de iniciar las pruebas de germinación. Las semillas se desinfectaron por inmersión en 10% de hipoclorito comercial (60 gl⁻¹ activo de Cl₂) y posteriormente se lavaron tres veces en agua destilada esterilizada.

Bioensayos de germinación. Germinación in vitro.

Los bio-ensayos de germinación en el laboratorio se realizaron en cajas de Petri de 9 cm con 15 ml de Agargel al 6% (Sigma Chemical, Co.) en agua destilada con cinco replicas y 50 semillas para germinar colocadas en cámara de crecimiento con un termo-período de 29/15° C y un foto-período de 16/8 horas luz/oscuridad. Se realizó un diseño factorial 2 x 2 para probar la escarificación/no-escarificación ácida de las semillas bajo dos condiciones de luz. Para la escarificación se probaron diez lotes de 50 semillas que estuvieron inmersas durante 1 min en ácido sulfúrico, posteriormente se lavaron vigorosamente con agua destilada. Las semillas fueron desinfectadas por inmersión en cloro comercial al 10% durante 1 min y lavadas nuevamente con

agua destilada. Cinco lotes se expusieron a luz completa y cinco envueltos en papel aluminio se mantuvieron en oscuridad. Los lotes de semillas no-escarificadas fueron tratados como el grupo de escarificadas bajo condiciones de foto-período de luz/oscuridad y completa oscuridad. Otro bio-ensayo de germinación probó diferente calidad de luz, utilizando filtros verde, azul, rojo, rojo lejano, luz completa, oscuridad con adición de ácido giberélico (GA) 500 ppm y oscuridad. La germinación se considero cuando el epicotilo alcanzó 1 mm de longitud y el porcentual de germinación se registro cada semana.

Bio-ensayo ex vitro.

A fin de evaluar la corteza del árbol de *B. gracilis* como sustrato en la germinación de *T. dasylirofolia*, se colectaron trozos de corteza del campo y se llevaron al laboratorio se sembraron 50 semillas escarificadas y se compararon con las sembradas en el medio de agar-gel. Los porcentajes de la germinación se obtuvieron después de 150 días, con tres réplicas. Los datos se analizaron con pruebas de X^2 (SAS, 1987).

Bioensayo de germinación in situ.

Durante la estación de lluvias del 2003, dos lotes de 1200 semillas listas para dispersar fueron escarificadas o no escarificadas, se sembraron 50 semillas en cajas de Petri con agar-gel 6%, y se colocaron directamente en los árboles de *Beaucarnea gracilis* en la comunidad del Izotal siendo cuarenta y ocho cajas de Petri con agargel en cuatro orientaciones N, S, E, O a 2 m de altura donde inician las ramas del árbol, (previamente reportado como altura preferencia para el crecimiento de *Tillandsia* (García-Suárez et al., 2003). Se registró la germinación un mes después.

Bioensayo de establecimiento de plántulas. Bio-ensayos in vitro

A fin de evaluar las necesidades de la nutrición mineral de las plántulas de *T. dasyliiriifolia*, se mantuvieron 250 plántulas en cinco medios de cultivo distintos con agar-gel : agua corriente (control), solución completa de Hoagland (HM); HM sin calcio; HM sin hierro o HM sin fósforo. Las plántulas se mantuvieron en una cámara de crecimiento durante seis meses con las condiciones ambientales arriba mencionadas.

Bioensayos in situ.

Un bio-ensayo similar a la germinación *in situ* fue realizado utilizando plántulas en lugar de semillas. Las plántulas se obtuvieron bajo las condiciones de laboratorio más favorables y llevadas y al Valle de Zapotitlán, donde se colocaron en discos de agar-gel (a fin de mantener humedad) en cinco árboles de *Beaucarnea* en cuatro orientaciones, N, S, E, O a 2 m de altura. Los resultados fueron evaluados después de 80 100, 130 y 155 días de la implantación en los árboles.

Las observaciones de la germinación y del crecimiento de plántulas en el campo se registraron, midieron y clasificaron.

Germinación *in vitro* y propagación clonal de la especie endémica *Tillandsia califanii* Rauh (Bromeliaceae) de México.

In-Vitro Germination and Clonal Propagation of Endemic *Tillandsia califanii* Rauh (Bromeliaceae) from Mexico.

En el laboratorio, las semillas se separaron y lavaron vigorosamente con agua corriente y dos lavados más de agua destilada estéril, se sumergen en hipoclorito de sodio 5% con Tween 20 como surfactante durante 5 minutos, posteriormente, se lavaron con agua destilada estéril. La germinación se probó con semillas escarificadas y no escarificadas. La escarificación consistió en sumergir las semillas en ácido sulfúrico concentrado seguido de lavados inmediatos con agua destilada abundante, las semillas se sembraron en medio de cultivo apropiado. A fin de identificar un medio adecuado para la germinación se compararon medios líquidos y sólidos utilizando agar-gel con medio Murashige-Skoog en diferentes concentraciones (Murashige y Skoog, 1962; Sigma Chemical Co. St. Louis, Missouri) y medio Knudson C (Sigma Chemical Co.) y contrastando con medio

sin nutrimentos como testigo. Las semillas se sembraron posteriormente en medio Murashige-Skoog (M-S) sólido con o sin ácido giberélico a (0.5 g/l) más 3% (w/v) de sacarosa y posteriormente se expusieron a condiciones de luz ó oscuridad. Se probó la germinación de las semillas con un medio M-S sólido suplementado o no con carbón activado y carbón activado adicionado con agua de coco más 3% (w/v) de sacarosa. Finalmente la germinación se probó con un medio sólido de M-S suplementado o no con sacarosa (1.5% o 3%). Para cada tratamiento se utilizaron 50 semillas para germinar por caja y con cinco replicas. Todos los tratamientos fueron colocados en una cámara de crecimiento con ciclo de luz de 16/8 horas, de luz/oscuridad, con iluminación de $45 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$ y $29 \pm 1^\circ\text{C}$ de temperatura. La viabilidad de las semillas se probó con el 2,3,5 cloruro de trifetil tetrazolio al 1% (TTC) suplementado con gotas de Tween 20, una solución incolora utilizada como un indicador de la actividad metabólica del embrión (van Waes y Debergh, 1986). La viabilidad del embrión fue determinada por el TTC y clasificada de acuerdo a Kuo et al. (1996); y sólo la categoría I (semillas viables) fueron utilizadas.

CAPITULO IV

Morfología y anatomía de tres especies de *Tillandsia* (Bromeliaceae) en el valle de Zapotitlán, Puebla, México.

Se colectaron plantas adultas de las especies *T. dasyliiriifolia*, *T. califanii* y *T. recurvata* y se transportaron al laboratorio para su posterior procesamiento. En el campo, se realizaron observaciones de las dos comunidades donde crecen éstas especies: el Izotal dominado por *Beaucarnea gracilis* Lem, y en el Cardonal mixto o Cardonal-tetechera, dominado por las cactáceas columnares *Cephalocereus columna-trajani* (Karw) Schum, *Neobuxbaumia tetetzo* (J M Coult) Backeb y sus posibles híbridos. Se revisaron las poblaciones homogéneas de *Cephalocereus columna-trajani* y de *Neobuxbaumia tetetzo*. En cada comunidad se marcaron dos cuadrantes de 50 m x 50 m en los que se realizaron registros de la ubicación del (los) forofito(s) así como de las especies de bromeliáceas que coexisten en el mismo hospedero, para cada tipo de comunidad vegetal.

Se contó el número de individuos de cada especie y se midieron en la parte más ancha de la planta (base de la roseta) así como su altura total (sin inflorescencia), denominándolas respectivamente base y altura.

Estudios anatómicos.

El material colectado fue fijado en FAA 10% y para el análisis anatómico de las tres especies de *Tillandsia*, se realizaron cortes transversales a 7 micrómetros con un microtomo rotatorio de hoja y de raíz, cortes longitudinales a la superficie de la epidermis y levantamiento de la misma. Las muestras se tiñeron con azul de toluidina, rojo neutro y Sudán III; se realizó la técnica tradicional de montaje en resina sintética (Johansen, 1940). El análisis de los cortes se realizó en microscopio compuesto Zeiss.

Ecofisiología de *Tillandsia dasyliriifolia* Baker (Bromeliaceae). Patrón fotosintético. Ecophysiology of *Tillandsia dasyliriifolia* Baker (Bromeliaceae). Photosynthetic pattern.

Observaciones anatómicas

Se colectaron plantas adultas en fase vegetativa *in situ* y se llevaron al laboratorio a fin de realizar las observaciones anatómicas. Se utilizaron microscopios óptico y estereoscópico para una descripción anatómica general. Se cortaron transversalmente hojas de *T. dasyliriifolia* a 7 μ y se tiñeron con solución de azul de toluidina 0.1% (w/v). Se examinaron laminillas de material fresco con un microscopio Zeiss Axiomat, se fotografiaron con cámara Cannon y rollo de color ASA100 Fujichrome.

Contenido relativo de agua (RWC)

Ya que éste método requiere la determinación de turgencia, peso fresco y seco, se colectaron plantas adultas en fase vegetativa en el campo y se llevaron al laboratorio. El peso fresco de las hojas se calculo como el cociente del peso seco dividido entre el peso turgente menos el peso seco. El peso turgente se determinó con la rehidratación de las hojas al colocarlas durante seis días en medio

Hoagland con concentración de 0.25X a fin de saturar el contenido de agua celular. El peso seco se obtuvo midiendo después de un secado a 60°C hasta que no hubo cambios en el peso del tejido (Barcikowski y Nobel, 1984).

El índice cuantitativo de succulencia (S) se estimó con el método de expansión de superficie sugerido por Kluge y Ting (1978) y el índice de Delf (1912, descrito en Kluge y Ting, 1978). El primero es una correlación del peso fresco y de superficie asumiendo que 1 g = 1 mL de equivalencia, mientras que el segundo es un cociente del contenido saturada de agua en el tejido relacionado con la superficie del tejido (Larcher, 1973).

Un índice específico de succulencia del mesófilo de la hoja (S_m) se determinó de acuerdo con Kluge y Ting (1978) y Osmond et al., (1989). La succulencia de la hoja (LSI) se definió con el peso fresco de la hoja sobre el peso seco mientras que el índice de succulencia del mesófilo (S_m) se determinó después del contenido de agua y el contenido de clorofila. La determinación de clorofila se obtuvo con la extracción de un gramo de hojas limpias inmersas en 5ml N,N dimetil-formamida (DMF Sigma Chemical, St. Louis, Mo, grado espectrofotómetro) después de tres días en oscuridad y se leyeron en absorbancias de 664.5 y 647 nm en un espectrofotómetro Lambda2 (Perkin Elmer, Piscataway, NJ). El tipo de clorofila y contenido se determina según las fórmulas de Inskeep y Bloom (1985). El peso seco de las hojas se obtuvo con el secado en horno a 60°C y se expresó en porcentaje del peso total de cada planta (Radoglous y Jarvis, 1992).

El intercambio de gas (toma neta de CO₂ y promedio de transpiración) se determinó en el mes de abril (primavera) y en junio (verano) con un analizador de gases infrarrojo portátil IRGA LCA 3 ADC (Li-Cor, Lincon, Ne). Se seleccionaron al azar plantas adultas de *T. dasyliriifolia* en el Izotal creciendo sobre el árbol hospedero *Beaucarnea gracilis*. Las medidas se hicieron prensando con clip del IRGA la superficie abaxial de la hoja de *T. dasyliriifolia* donde hay más estomas presentes. El intercambio de gas se midió cada 4 h durante un período de 24 h y

las mismas medidas se repitieron para tres plantas. En cada planta se seleccionaron cuatro hojas y el monitoreo del intercambio gaseosos se hizo en éstas. Se registraron las temperaturas máximas y mínimas del aire.

Para la determinación del ácido málico se titularon muestras de 5 gr de hojas enteras cada 4 h en un período de 24 h. Las muestras se congelaron y almacenaron antes de ser procesadas. Las hojas fueron maceradas en mortero frío, se retiró la suspensión celular y se coló la muestra con filtro, retirando detritos y se tituló a pH 7.0 con 0.01 N de NaOH (Martin et al., 1981).

Metodología que se utilizó para estudiar diferentes aspectos de la ecofisiología de *Tillandsia dasyliiriifolia* y de las especies vegetales que comparten la distribución espacial y temporal de ésta epífita en dos comunidades vegetales, el Izotal y el Cardonal, dentro del Valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla.

REFERENCIAS

- Ackermman, J.D. 1986. Coping with the epiphytic existence: pollination strategies. *Selbyana* 9: 52-60.
- Barcikowski, W. y P.S. Nobel. 1984. Water relations of cacti during dessication: distribution of water in tissue. *Botanical Gazette* 145:110-115.
- Benzing, D.H. 1970. An investigation of two bromeliad myrmecophytes: *Tillandsia butzzi* Mez, *T. caput-medusae* E. Morren and their ants. *Bull. Torrey Bot. Club* 97:109-115.
- Benzing, D.H. 1973. The monocotyledons: their evolution and comparative biology. I. Mineral nutrition and related phenomena in Bromeliaceae and Orchidaceae. *Quarterly Review of Biology* 48: 277-290.
- Benzing, D.H. 1976. Bromeliad trichomes: structure, function and ecological significance. *Selbyana* 1 :330-348.
- Benzing, D.H. 1978. The life history profile of *Tillandsia circinnata* (Bromeliaceae) and the rarity of extreme epiphytism among the angiosperms. *Selbyana* 2:325-337.

- Benzing, D.H. 1979. Alternative interpretations for the evidence that certain orchids and bromeliads act as shoot parasites. *Selbyana* 5:135-144.
- Benzing, DH. 1980. The biology of the bromeliads. Mad. River Press, Inc. Eureka Ca. 305 p.
- Benzing, DH. 1981. Mineral nutrition of epiphytes: an appraisal of adaptive features *Selbyana* 5: 219-223.
- Benzing, DH. 1986. The vegetative basis of vascular epiphytism. *Selbyana* 9:23-43.
- Benzing, D.H. 1987. Vascular epiphytism: taxonomic participation and adaptive diversity. *Annals of the Missouri Botanical Gardens*. 74:183-204.
- Benzing, D.H. 1990. Vascular epiphytes. Cambridge University Press, Cambridge Mass. 354p.
- Benzing, D.H. 2000. Bromeliaceae: Profile of an adaptive radiation . Cambridge: Cambridge Univ. Press.
- Benzing, D.H. y J. Seeman. 1978. Nutritional piracy and host tree decline: a new perspective on the epiphyte-host relationship. *Selbyana* 2:133-148.
- Benzing, D.H. y E. A. Davidson. 1979. Oligotrophic *Tillandsia circinnata* Schlecht. (Bromeliaceae): an assessment of its patterns of mineral allocation and reproduction. *American Journal of Botany*. 66:386 –397.
- Benzing, D.H. y D.W., Ott. 1981. Vegetative reduction in epiphytic Bromeliaceae and Orchidaceae: its origin and significance. *Biotropica* 13: 131-140.
- Benzing, D.H. y A. Renfrow. 1974. The mineral nutrition in Bromeliaceae. *Botanical Gazette*. 135:281-288.
- Benzing, D.H. y A. Renfrow. 1980. The nutritional dynamics of *Tillandsia circinnata* in southern Florida and the origin of the “air plant” strategy. *Botanical Gazette*. 141:165-172.
- Benzing, D.H. Friedman, W.E., Peterson, G. y A. Renfrow. 1983. Shootlessness, velamentous roots and the pre-eminence of Orchidaceae in the epiphytic biotope. *Am. J. Bot.* 70:121-133.
- Castro-Hernández, J.C., Wolf, J.H.D., García-Franco, J.G. y M. González-Espinosa. 1999. The influence of humidity, nutrients and light on the establishment of the epiphytic bromeliad *Tillandsia guatemalensis* in the highlands of Chiapas, México. *Revista Biología Tropical* 47: 763-773.

- Cardel, Y., Rico Gray, V., García-Franco, J.G, y L.B. Thien. 1996. Ecological status of *Beaucarnea gracilis* Lem. (Nolinaceae): and endemic species of the semiarid Tehuacán Valley, Mexico. *Conservation Biology* 11: 367-374.
- Chase, M.W. 1987. Obligate twig epiphytes in the Oncidiinae and other neotropical orchids. *Selbyana* 10: 24-30.
- Crayn, D.M., Winter, K. y J.A.C. Smith. 2004. Multiple origins of crassulacean acid metabolism and the epiphytic habit in the Neotropical family Bromeliaceae. *Proceeding of the National Academy of Sciences* 101: 3703-3708.
- Dahlgre, R.M.T., Clifford, H.T. y P.F. Yeo. 1985. The families of the monocotyledons: Structure, Evolution and Taxonomy. Springer Verlag, Berlin. 520 pp.
- Dávila, A.P., Villaseñor J.L., Medina L.R., Ramírez R.A., Salinas, T., Sánchez-Ken, J. y P. Tenorio L. 1993. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Listados Florísticos de Mexico X. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. 195 pp.
- Dávila, A. P., Medina L. R., Ramírez R. A., Salinas, T. A. y P. Tenorio L. 1995. Análisis de la Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán endemismo y diversidad. En: Conservación de plantas en peligro de extinción: Diferentes enfoques. Eds. Edelmira Linares, Patricia Daviala, Fernando Chiang, Robert Bye Thomas S. Elias. Universidad Nacional Autónoma de México. 33-41 pp.
- Delf, E.M. 1912. Transpiration in succulent plants. *Annals of Botany* 26:409-440.
- Evenari, M. 1981. Ecology of the Negev desert, a critical review of our knowlege. En: Shuval H (ed) *Development in Arid Zone Ecology and Environment Quality*. Balaban ISS Rehovot, 1-33pp.
- García-Suárez, M.D., Rico-Gray, V. y H. Serrano. 2003. Distribution and abundance of *Tillandsia* spp. (Bromeliaceae) in the Zapotitlán Valley, Puebla, México. *Plant Ecology* 166:207-215.
- García-Suárez, M.D., Rico-Gray, V, Molina-Aceves, N. y H. Serrano. 2006. In vitro Germination and clonal propagation of the endemic *Tillandsia califanii* Rauh (Bromeliaceae) from Mexico. *Selbyana* 27:54-59.
- Gardner, C.S. 1984. Natural hybridization in *Tillandsia* subgenus *Tillandsia*. *Selbyana* 7:380-393.

- Gardner, C.S. 1986a. Inferences about pollination in *Tillandsia* (Bromeliaceae). *Selbyana* 9:76-87.
- Gardner, C.S. 1986b. Preliminary classification of *Tillandsia* based on Floral characters. *Selbyana* 9:130-146.
- Gilmartin, A.J. y G.K.Brown. 1985. Cleistogamy in *Tillandsia capillaris* (Bromeliaceae) *Biotropica* 17:256-259.
- Gentry, A.H. y C.H. Dodson. 1987. Diversity and biogeography of neotropical vascular epiphytes. *Annals of the Missouri Botanical Gardens*. 74:205-233.
- Griffiths, H y J.A.C. Smith. 1983. Photosynthetic pathways in the Bromeliaceae of Trinidad: relations between life form habitat preference and preference and the occurrence of CAM. *Oecologia* 60:176-184.
- Hietz, P. y U. Hietz Steifer. 1995a. Composition and ecology of vascular epiphyte communities along an altitudinal gradient in central Veracruz, Mexico. *Journal Vegetation Science*. 6:487-498.
- Hietz, P. y U. Hietz-Seifert. 1995b. Structure and ecology of epiphyte communities of cloud forest in central Veracruz, Mexico. *Journal of Vegetation Science*. 6:719-728.
- Inskeep, W.P. and Bloom, P.R. 1985. Extinction coefficients of chlorophyll a and b in N, N- Dimethylforamamide and 80% of acetone. *Plant Physiology* 77:483-485
- Isley III, P.T. 1987. *Tillandsia* . The World's most unusual air plants. Botanical Press. Gardena, Ca. 209 pp.
- Jaramillo, L.V. y F. González-Medrano. 1983. Análisis de la vegetación arbórea de la Provincia Florística de Tehuacán-Cuicatlán. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 45:49-64.
- Johansen, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. MacGraw Hill. Nueva York.
- Johansson, D. 1974. Ecology of vascular epiphytes in West African rain forest. *Acta Phytogeogr. Suec.* 59:1-136.
- Kluge, M. y I.P. Ting. 1978. *Crassulacean acid metabolism: analysis of an ecological adaptation*. Berlin: Springer-Verlag. 209 pp
- Kress, W.J. 1986. A symposium: The biology of tropical epiphytes. The systematic distribution of vascular epiphytes. *Selbyana* 9:2-22.

- Kress, W.J. 1989. The systematic occurrence of vascular epiphytes. In: Vascular plants as epiphytes: evolution and ecophysiology. Ecological Studies. Lüttge, U. ed. Heidelberg: Springer Verlag. 234-261.
- Kuo, W.H, Yan A.C. y N. Leist. 1996. Tetrazolium test for the seeds of *Salvia splendens* S. *farinaceae*. Seed Sci. & Technol. 24:17-21
- Larcher, W. 1973. Oekologie der Pflanzen. Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer.
- Luther, H.E. 2000. An alphabetical list of Bromeliad binomials. The Bromeliad Society International. Sarasota Fl. 82 pp.
- Lüttge, U. 1987. Carbon dioxide and water demand: crassulacean acid metabolism (CAM), a versatile ecological adaptation exemplifying the need for integration in ecophysiological work. New Phytol. 106:593-629.
- Lüttge, U. 1997. Physiological ecology of tropical plants. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag.
- Lüttge, U. 2004. Ecophysiology of Crassulacean Acid Metabolism (CAM). Annals of Botany 93: 629-652.
- Martin, C.E. 1994. Physiological ecology of the Bromeliaceae. Botanical Review 60:1-82.
- Martin, C. E. y J.N. Siedow. 1981. Crassulacean acid metabolism in the epiphyte *Tillandsia usneoides* L. (Spanish moss). Plant Physiol. 68:335-339.
- Martin, C.E. y Adams, III W.W. 1987. Crassulacean acid metabolism, CO₂-recycling, and tissue desiccation in the Mexican epiphyte *Tillandsia schiedeana* Steud. (Bromeliaceae). Photosynthesis Research 11:237-244.
- Martin, C.E. y Schmitt A.K. 1989. Unusual water relations in the CAM atmospheric epiphyte *Tillandsia usneoides* L. (Bromeliaceae). Botanical Gazette 150:1-8.
- Martin, C.E., Christensen, N.I. y B.R. Strain. 1981. Seasonal patterns of growth, tissue acid fluctuations and CO₂ uptake in the crassulacean acid metabolism epiphyte *Tillandsia usneoides* L. (Spanish Moss). Oecologia 49:322-328.
- Maxwell, C, Griffiths H. y A.J. Young . 1994. Photosynthetic acclimation to light regime and water stress by the C₃-CAM epiphyte *Guzmania monostachia*: gas-exchange characteristics, photochemical efficiency and the xanthophyll cycle. Functional Ecology 8:746-754.

- Mayer, A.M. y A. Poljakoff-Mayber. 1975. *Germination of Seeds*. Pergamon Press. New York.
- Medina, E., Delgado, M. Troughton, J.H. y J.D. Medina. 1977. Physiological - ecology of CO₂ fixation in Bromeliaceae. *Flora* 166:137-152.
- Meyran, G. J. 1973. *Guía botánica de cactáceas y otras suculentas del valle de Tehuacán*. Sociedad Mexicana de Cactología. A. C. México. 50 pp.
- Montaña, C., Dirzo, R. y A. Flores. 1997. Structural parasitism of an epiphytic bromeliad upon *Cercidium praecox* in an intertropical semiarid ecosystem. *Biotropica* 29: 517-521.
- Murashige, T. y F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with *Tobacco* tissue culture. *Physiol. Plant.* 15:473-479.
- Nadkarni, N.M. 1981. Canopy roots: convergent evolution in rainforest nutrient cycles. *Science* 214:1024-1025.
- Nadkarni, N.M. 1986. The nutritional effects of epiphytes on host trees with special reference to alteration of precipitation chemistry. *Selbyana* 9:44-51.
- Nadkarni, N.M. y R.B. Primack. 1989. The use of gamma spectrometry to measure within plant nutrient allocation of a tank bromeliad, *Guzmania lingulata*. *Selbyana* 11:22-25.
- Nadkarni, N.M. y T.J. Matelson. 1992. Biomass and Nutrient Dynamics of Epiphytic Litterfall in a Neotropical Montane Forest, Costa Rica. *Biotropica* 24: 24-30.
- Nieder, J., S. Engwald y W. Barthlott. 1999. Patterns of Neotropical Epiphyte Diversity. *Selbyana* 20:66-75.
- Norton, D.A., Hobbs, R. J. y L. Atkins. 1995. Fragmentation, disturbance and plant distribution: mistletoes in woodland remnants in the western Australian wheatbelt. *Conservation Biology* 9: 426-438.
- Osmond, C.B. 1978. Crassulacean acid metabolism: a curiosity in context. *Annual Review of Plant Physiology* 29:379-414.
- Osmond, C.B., Williams, W.A. y Smith, S.D. 1989. Crassulacean acid metabolism In: Pearcy, R.W., Ehleringer, J.R., Mooney, H.A. & Rundel, P.W. (Eds), *Plant Physiological Ecology* Chapman & Hall. London. 255-280 pp.

- Osorio- Beristain, O., Valiente-Banuet, A. Davila A, P. y R. Medina. 1996. Tipos de vegetación y diversidad β , en el Valle de Zapotitlán, de las Salinas, Puebla, México. Boletín de la Sociedad Botánica de México 59:35-58.
- Radoglous, K.M. y Jarvis P.G. 1992 . Effects of CO₂ enrichment and nutrient supply on growth and leaf anatomy of *Phaseolus vulgaris* L. seedlings. Annals of Botany 90:245-246.
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Ed. Limusa, México. 432 pp.
- SAS, 1987. SAS guide for personal computers. Verstion 6 SAS Institute Inc. Cary, North Carolina.
- Sazima, M., Buzato, S. y I. Sazima. 1995. Bat pollination of *Vriesea* in Southeastern Brazil. Bromelia 2:29-37.
- Schlesinger, W.H. y P.L Marks. 1977. Mineral cycling and the niche of Spanish moss, *Tillandsia usneoides* L. American Journal of Botany 64:1254-1262.
- Schmidt , G. y G. Zotz . 2001. Ecophysiological consequence of differences in plant size- *in situ* carbon gain and water relations of the epiphytic bromeliad *Vriesea sanguinolenta*. Plant Cell and Environment 24:101-112.
- Siqueira, F., Alves de, J. y I.C. Machado. 2001. Reproductive biology of *Canistrum aurantiacum* E. Morren (Bromeliaceae in Atlantic rain Forest Northeastern Brazil. Acta Bot. Bras. 15:427-443.
- Smith, L.B. y R.J. Downs. 1974. Pitcairnioideae (Bromeliaceae). Flora Neotropica Monograph 14. Part 2. Hafner Press, New York. 40-55 pp.
- Smith, L.B. y R.J. Downs. 1977. Tillandsioideae (Bromeliaceae). Flora Neotropica Monograph 14. Part 2. Hafner Press, New York. 1492 pp.
- Soltis, D.E., Gilmartin, A.J. Rieseberg, L. y S. Gardner. 1987. Photosynthesis in epiphytic and rooted *Clusia rosea* Jacq. Oecologia 72:457-460.
- Souza, R.C.O.S. y L.J. Neves. 1996. Anatomía foliar de cuatro especies de *Tillandsia*. Bromelia 3:28-39.
- Tomilson, P.B. 1969. Anatomy of the monocotyledons:III. Commelinales-Zingiberales. Oxford Oxford: University Press. 446pp.
- Winkler, M., Hülber, K., Mehlreter, K.V., García Franco, J.G., y P. Hietz. 2005. Herbivory in epiphytic bromeliads, orchids and ferns in a Mexican montane forest. Journal of Tropical Ecology. 21:147-154.

- Winter K., y J.A.C. Smith. 1996. Crassulacean acid metabolism. Biochemical principles in ecological diversity. In: Winter K.& Smith JAC. (Eds). 1996 Crassulacean acid metabolism. Biochemistry, ecophysiology and evolution. Ecological studies Springer, Berlin Heidelberg. 1-13 pp.
- Zavala-Hurtado, J.A. 1982. Estudios ecológicos en el Valle semiárido de Zapotitlán, Puebla I. Clasificación numérica de la vegetación basada en atributos binarios de presencia o ausencia de las especies. *Biotica* 7:99-120.
- Zimmerman J. K. y I.C. Olmsted. 1992. Host tree utilization by vascular epiphytes in a seasonally inundated forest (tintal) in Mexico. *Biotropica* 24:405-407.
- Zotz, G. y J.L.Andrade. 1998. Water relations of two co-occurring epiphytic bromeliads. *Journal of Plant Physiology* 152:545-554.
- Zotz, G. y V. Thomas. 1999. How much water is the tank? Model calculations for two epiphytic bromeliads. *Annals of Botany* 83:183-192.
- Zotz, G. y P. Hietz. 2001. The physiological ecology of vascular epiphytes: current knowledge, open questions. *Journal of Experimental Botany* 52:2067-2078.
- Zotz, G., Hietz P. y G. Schmidt. 2001. Small plants, large plants: the importance of plant size for the physiological ecology of vascular epiphytes. *Journal of Experimental Botany* 52: 2051-2056.



CAPITULO I.

SITIO DE ESTUDIO

Las zonas áridas y semiáridas se caracterizan por su elevada temperatura del aire, marcadas fluctuaciones de ésta durante el día y la noche, baja precipitación y humedad, evaporación rápida y suelos con bajo contenido de nutrimentos orgánicos (Evenari, 1981).

El sitio de estudio de las epífitas se dirige hacia las condiciones donde habitan sus hospederos los cuales brindan un ambiente particular que afectan su crecimiento y desarrollo.

DESCRIPCION DEL AREA DE ESTUDIO

El estudio se realizó en el Valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla. Un área en la porción sudeste del estado de Puebla, cercano a los límites noroeste del estado de Oaxaca (18°20'N 97°28'W; elevación 1,400-1,600 m). El clima es seco con estación de lluvias durante los meses de Mayo y Agosto (en ocasiones Septiembre). La precipitación anual es de 300-350 mm, y la temperatura media anual es de 20°C (Zavala Hurtado, 1982).

Los tipos principales de asociación vegetal, con ecotonos no claros son: "Matorral espinoso" compuesto por *Acacia cochliata*, *Cercidium praecox*, *Ipomoea pauciflora*, *Mimosa luisana*, *Prosopis laevigata*; "cardonal-tetechera" con *Cephalocereus columna trajani*, *Neobuxbaumia tetetzo*, *Agave karwinskii*, *Mimosa luisana*, *Caesalpinia melanadenia*, *Calliandra capillata*, *Gymnosperma glutinosa*, *Mamillaria hageana*, *Mammillaria sphacelata*, *Mammillaria carnea*; "izotal" con *Yucca periculosa*, *Agave marmorata*, *Beaucarnea gracilis*, *Echinocactus*

platyacanthus, *Castela tortuosa*, *Caesalpinia melanadenia*, *Hechtia podantha*, y bosque tropical caducifolio con *Bursera biflora*, *Ceiba parvifolia*, *Senna holwayana*, *Plumeria rubra*. El Valle ha sido considerado como una región única en términos de su riqueza florística, con un endemismo del 30% y es un importante núcleo que debe ser conservado (Dávila et al., 1993; Jaramillo y González de Medrano, 1983; Rzedowski, 1978; Villaseñor et al., 1990; Vite et al., 1992). En el Valle podemos encontrar varias especies de *Tillandsia* (Bromeliaceae), las cuales presentan diferentes mecanismos adaptativos al medio árido (Meyran, 1973; Smith y Downs, 1977) como se mencionó en la introducción de este trabajo.

Descripción de las *Tillandsia* que se encuentran en las comunidades del Izotal y Cardonal.

Tillandsia pertenece a la subfamilia Tillandsioideae, son principalmente epífitas de distribución limitada al continente Americano. Se han identificado más de cuatrocientas especies del género, cuya taxonomía ha sido basada según caracteres vegetativos (Gardner, 1982).

***Tillandsia dasyliirifolia* Baker (J. Bot. 25:304. 1887)**

Plantas epífitas acaulescentes, solitarias o coloniales 30-120 cm, hojas coriáceas finamente cinéreo-lepidotas, más cortas que la inflorescencia con nervación prominente, las externas verdes, las internas rojizas en floración, vainas, ovadas; láminas angostamente triangulares. Escapo alargado, delgado o robusto: brácteas del escapo remotas, finamente cinéreo-lepidotas, las inferiores foliáceas, las superiores reducidas a una vaina rojizas. Inflorescencia compuesta, rara vez simple, paniculada, raquis flexuoso, erecta: brácteas florales ovadas, remotas más cortas que los sépalos encarinados pero engrosados en la región media longitudinal, glabras, con nervación escasamente prominente, verdes con el margen guinda o guinda verdoso. Sépalos encarinados adnatos $\frac{1}{4}$ al ovario, glabros, lustrosos con nervación finamente prominente, verdes pero con el margen y el ápice guinda o guinda con verde. Pétalos oblongos, blancos $\frac{1}{2}$ hacia la base,

morados $\frac{1}{2}$ hacia el ápice. Estambres exsertos de igual longitud, filamentos amarillo verdosos, anteras negras. Pistilo más largo que los estambres; estilo amarillo verdoso, estigma verde.

Es una especie de amplia distribución, se localiza desde el centro de la República Mexicana hasta el norte de El Salvador; Belice, Guatemala, Honduras y Colombia. Su habitat: bosque de Quercus con elementos de bosque tropical caducifolio, bosque de Quercus y Pinus, Bosque de Pinus, Bosque claro, vegetación secundaria y bosque tropical caducifolio; 1300-2100 msnm.

Flores (1998) comenta sobre *T. dasyliiriifolia* que se conoce con el nombre de tecolomen, presenta caracteres muy similares a *T. makoyana* ambas presentan el raquis de la inflorescencia flexuoso, brácteas florales ovadas, más cortas que los sépalos, corola violeta y estambres exsertos (Baker, 1989) describe a ambas especies y la diferencia por la posición de las flores ascendentes en *T. dasyliiriifolia* y flores adpresas en *T. makoyana*.; este carácter es variable y requiere de observaciones de campo.

Existen estudios sobre su taxonomía y distribución (Smith y Downs, 1977) que han contribuido a su conocimiento. Sin embargo sobre su ecofisiología se conoce poco.

***Tillandsia califanii* Rauh. (Monograph 14 p2. Hafner Press. N.Y. 1977).**

Es una planta sin tallo, con inflorescencia que alcanza unos 80 cm de altura, sus hojas son de 35 cm y forman una roseta funeliforme de 40 cm de longitud, las vainas son indistintas, de 6 cm de largo y 4 cm de ancho en su base, es densamente lepidotada con láminas de forma triangular, de 30 cm de largo y 35 mm de ancho, largas y atenuadas, se secan pronto y presentan márgenes involutos. Escapo erecto y firme de 20 a 30 cm de largo más corto que las hojas, brácteas erectas imbricadas y las más bajas subfoliáceas con una lámina corta

lineal, la parte superior ovada, apiculada color carmín pálido, inflorescencia simple de 50 cm de largo y de 2 a 3 cm de ancho. Las brácteas florales densamente imbricadas convexas y brevemente apiculadas de color carmín pálido y escamas de color blanquecino; las brácteas son delgadas con nervaduras subprominentes. Los sépalos son ampliamente lanceolados igualmente cortos conados de 30 mm de largo y 9 mm de ancho, membranosos blancos a verde pálido, glabros y la parte posterior carinados, pétalos erectos lineares de 6 cm de largo, 6 mm de ancho, color azul-violeta oscuro, estambres y estilo excerto, anteveras verde-amarillo pálido, estilo y estigmas violeta.

Habita en zona semiárida en matorral crassicaule. Su distribución es únicamente conocida para la zona de Teotitlán-Tehuacán Puebla y sólo se ha descrito su taxonomía (Smith y Downs, 1977), por ello es considerada como una especie endémica del Valle semiárido de Tehuacán, localizándose a 1200-1700 msnm. Gardner (1984) realiza un trabajo donde demuestra el 96% de viabilidad de su polen, descartando la posibilidad de que *T. califanii* sea un híbrido,

***Tillandsia recurvata*(L.) L., (Sp. Pl. ed. 2. 410. 1762).**

Plantas epífitas saxícolas, caulescentes coloniales, 3-18 cm que presenta raíces. Hojas dísticas subcarnosas 3 a 17 cm de longitud, densamente cinéreo-lepidotas, más cortas que la inflorescencia sin nervación prominente, con escamas verde-cenicientas, vainas ovadas amplexicaules; láminas lineares. Escapo alargado, filiforme, brácteas del escapo dos por debajo de la inflorescencia, remotas, densamente cinéreo lepidotas foliáceas, guinda-verdosos, verde cenizo. Inflorescencia simple, raquis recto erecta con 1-2 flores sésiles o pediceladas, bracteas florales ovadas, remotas mas cortas que los sépalos ecarinadas, densamente cinéreo- lepidotas, sin nervación prominente, verdes -guinda oscuro. Sépalos encarinados connatos y glabros, con nervación prominente, verdes y guinda oscuro. Pétalos oblongos, blancos- morados. Estambres insertos, de igual

longitud, filamentos filiformes, blancos; antera filiformes. Pistilo más corto que los estambres; estilo más corto que el ovario, blanco; estigma blanco.

Su distribución es cosmopolita: México, Estados Unidos, Argentina, Cuba, Jamaica, Haití República Dominicana Puerto Rico, Islas Vírgenes Islas Leeward, Guatemala, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Venezuela Colombia, Ecuador, Perú Brasil, Bolivia, Chile, Paraguay, Uruguay. Su habitat: bosque de *Quercus* Bosque de *Quercus* y *Pinus* , bosque tropical caducifolio, matorral xerófilo, ruderal, vegetación riparia 1500-2600 msnm.

REFERENCIAS

- Baker, J.G. 1989. Bromeliaceae. In: Handb. Bromel. London Plant monograph reprints (1972). Lehre: J. Cramer. 243p.
- Dávila, A.P., Villaseñor, J.L., Medina, L.R., Ramírez, R., Salinas, T.A., y J. Sánchez-Ken. 1993. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Listados Florísticos de México, no. 10 Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. D.F. México.
- Evenari, M. 1981. Ecology of the Negev desert, a critical review of our knowlege. En: Shuval H (ed) Development in Arid Zone Ecology and Environment Quality. Balaban ISS Rehovot 1-33 pp.
- Flores Cruz, M. 1998. Flora Genérica de la Familia Bromeliaceae en el Estado de México. Manual para la identificación de las especies de la familia Bromeliaceae presentes en el estado de México. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. Ciudad Universitaria. UNAM. México, D.F. México 186 pp.
- García-Suárez, M.D., Rico-Gray, V., y H. Serrano. Distribution and Abundance of *Tillandsia* spp. (Bromeliaceae) in the Zapotitlán Valley, Puebla, México. Plant Ecology 166: 207-215, 2003.
- Gardner, C.S. 1982. A systematic study of *Tillandsia* subgenus *Tillandsia* Ph D. Thesis, Texas A & M University College Station, Texas 305 p.

- Gardner, C.S. 1984. Natural hybridization in *Tillandsia* subgenus *Tillandsia*. *Selbyana* 7:380-393.
- Jaramillo, L.V. y F. González-Medrano. 1983. Análisis de la vegetación arbórea de la Provincia Florística de Tehuacán-Cuicatlán. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 45:49-64.
- Meyran, G.J. 1973. Guía botánica de cactáceas y otras suculentas del valle de Tehuacán. *Sociedad Mexicana de Cactología* A.C. México.
- Rzedowski, J. 1978. *Vegetación de México*. Editorial LIMUSA. México.
- Smith, L.B. y R.J. Downs. 1977. *Flora Neotropica*. Monograph 14 Part 2 Tillandsioideae (Bromeliaceae). Hafner Press, New York.
- Villaseñor, J.L., Dávila, P. y F. Chiang. 1990. Fitogeografía del valle de Tehuacán, Cuicatlán. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 50:135-149.
- Vite, F., Zavala-Hurtado, J.A., Armella, M.A. y M.D.García-Suárez. 1992. Regionalización y caracterización macroclimática del matorral xerófilo . Section IV 8-3. In: Gutiérrez de MacGregor, M.T., Cell-Hurtado, A. y García Fuentes, A.(eds). *Atlas Nacional de México, 2: tópicos fitogeográficos (provincias, matorral xerófilo y cactáceas)*. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F., México.
- Zavala-Hurtado, J.A. 1982. Estudios ecológicos en el Valle de Zapotitlán, Puebla I. Clasificación numérica de la vegetación basada en atributos binarios de presencia ausencias de las especies. *Biótica* 7: 99-119.



CAPITULO II

**Distribución y abundancia de
Tillandsia spp. (Bromeliaceae) en el
Valle de Zapotitlán, Puebla, México.
Plant Ecology 166:207-215 (2003).**



Plant Ecology 166: 207-215. 2003

DISTRIBUTION AND ABUNDANCE OF *TILLANDSIA* SPP. (BROMELIACEAE) IN THE ZAPOTITLAN VALLEY, PUEBLA MÉXICO.

MA. DOLORES GARCIA-SUAREZ* VICTOR. RICO-GRAY†, AND, HÉCTOR
SERRANO**.

* Departamento de Biología**Departamento de Ciencias de la Salud Universidad
Autónoma Metropolitana Iztapalapa, Ave. Michoacán y Purísima, México, D.F. 09340,
México

†Departamento de Ecología Vegetal, Instituto de Ecología A.C., Apdo. 63, Xalapa, Ver.
91000 México

Abstract

We studied the distribution and abundance of three epiphytic Bromeliaceae (*Tillandsia dasyliiriifolia*, *T. califanii*, and *T. recurvata*), in two different vegetation associations ('izotal', 'cardonal') in the Zapotitlán Valley, Puebla, México. We quantified all bromeliads considering their size (height and basal diameter), as well as their spatial orientation considering height from the ground, the distance to the center of the tree, and orientation on the host tree. At the 'Izotal', the epiphytes on *Beaucarnea gracilis* (Nolinaceae) exhibited a clumped distribution pattern. Whereas in the 'Cardonal', epiphytes use columnar cacti (*Cephalocereus columna trajani*) for support, are more scarce, exhibit smaller size (height), and fewer number of clumps. The distribution of *T. dasyliiriifolia* and *T. califanii* is influenced by the distribution of their two main hosts, while *T. recurvata* might be randomly distributed. The distribution of *Tillandsia* individuals on *Beaucarnea* plants was quite characteristic: (i) *T. recurvata* was mostly SW oriented, on the lower strata (2.50-3.59 m) and very close (0-0.59 cm) to the center of the phorophyte; (ii) *T. dasyliiriifolia* was mostly SE oriented, on the low strata, and close to the center of the phorophyte (0.60-1.19 m); and (iii) *T. califanii* was mostly NE oriented, on low strata, and very close to the center of the phorophyte. The spatial distribution among species depends on different ecological aspects and/or their preferences for humidity, temperature and light that enable their establishment.

Key Words

Bromeliads, Epiphytes, Age structure, Zapotitlan Valley.

Introduction

Studies on conservation of plant communities seldom address the conservation of epiphytes (e.g., bromeliads, orchids, cacti, ferns); although some may reach a considerable economic value. Epiphytes are usually forgotten and considered as inconspicuous small plants inhabiting the canopy of economically important trees (Holbrook, 1991). However, their geographic distribution, their patchy distribution within habitats, and the destruction of their natural habitats, represent a threat to this life form. Moreover, the study of epiphytes poses methodological problems, e.g., their quantification or accessibility.

As many bromeliads, species in the genus *Tillandsia* (Bromeliaceae) are a good example of plants exhibiting natural patchy distribution patterns. The most specialized genera of bromeliads are strictly epiphytic, e.g., roots are only present in their juvenile stage, sometimes they do not have deposits at their leafy bases, and are capable of absorbing water directly from the air through their multicellular scaly trichomes (Benzing, 1980). Thus, being epiphytes, their abundance and distribution depends on the spatial distribution pattern of host plants, as well as on the germination sites on their hosts (Benzing, 1990). Most epiphytes share host plants or phorophytes, usually with different frequencies; however, in a few exceptional cases their distribution is restricted to only one phorophyte. Bromeliads are not randomly distributed, they form patches according to the distribution of the phorophyte, and their within-habitat orientation follows temperature and light gradients (Bennet, 1987). Moreover, the morphology of a phorophyte and both the physical and chemical characteristics of its bark are factors which determine the distribution and the number of species and individuals of colonizing epiphytes (Johansson, 1974; Schlesinger and Marks, 1977; Bennet, 1987). For example, their establishment may be affected by the texture, porosity and

chemical composition of the bark; being relatively easier on rough rather than smooth trunks.

Vascular epiphytes are an important component of tropical biodiversity, particularly in the neotropics (Gentry and Dodson, 1987). The semiarid regions of México are notorious because they are the evolutionary center for cacti and many desert succulent species, but they are also highly rich in atmospheric-habit species of *Tillandsia* (Rzedowski, 1978). Xerophytic bromeliads are able to exploit dry and hot stressful habitats, however, little is known on their establishment patterns, if there are specific characteristics of hosts more suitable for establishment, and which is their distribution pattern.

Here we examine the distribution and abundance of three species of *Tillandsia* (Bromeliaceae:Tillandsioideae) inhabiting a fragmented population of the “Izotal” plant association (Cardel et al. 1996) in the Zapotitlán valley, Puebla, México. The distribution of *T. califanii*, *T. dasyliiriifolia*, and *T. recurvata* were analyzed in two plant associations. The first association is ‘izotal’ (Fig. 1a), where the main host for the three *Tillandsia* species is the monocotyledon *Beaucarnea gracilis* (Nolinaceae). *B. gracilis* attains heights of 6-8 m, and is endemic to the Zapotitlán valley. It is the main component of the ‘izotal’. The second association is the ‘cardonal’ (Fig. 1b), where the alternative host plants are the columnar cacti *Cephalocereus columna trajani* and *Neobuxbaumia tetetzo* (Cactaceae) as well as their putative hybrids.

The study area poses rather interesting challenges for conservation programs and strategies, because the bromeliads (except for *T. recurvata*) and their host plants (*B. gracilis*, *C. columna trajani* and *N. tetetzo*) are endemic of the Tehuacán-Cuicatlán-Zapotitlán valley system (e.g., Cardel et al. (1996), present patchy distributions patterns and are

restricted to a particular type of habitat. A first approach to meet this challenge is to study their population status.

Study Area

The study was carried out at valley of Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México, a mountainous area in the southeast portion of the state of Puebla, close to the northeastern limits of the state of Oaxaca (18° 20' N, 97° 28' W; elevation 1,400-1,600 m). The climate is dry with a rainy season occurring between May and August (sometimes September). Total annual precipitation is ca. 300-350 mm, and mean annual temperature is ca. 20°C (Zavala-Hurtado, 1982). The major vegetation associations, with no clear ecotones in many parts, are: thorny scrub or 'matorral espinoso' (with *Acacia cochliacantha*, *Cercidium praecox*, *Ipomoea pauciflora*, *Mimosa luisiana*, *Prosopis laevigata*), 'cardonal - tetechera' (with *Cephalocereus columna trajani*, *Neobuxbaumia tetetzo*, *Agave karwinskii*, *Mimosa luisana*, *Caesalpinia melanadenia*, *Calliandra capillata*, *Gymnosperma glutinosa*, *Mammillaria haageana*, *Mammillaria sphacelata*, *Mammillaria carnea*), 'izotal' (with *Yucca periculosa*, *Agave marmorata*, *Beaucarnea gracilis*, *Echinocactus platyacanthus*, *Castela tortuosa*, *Caesalpinia melanadenia*, *Hechtia podantha*), and tropical dry forest (with *Bursera biflora*, *Ceiba parvifolia*, *Senna holwayana*, *Plumeria rubra*). The valley has been considered as a unique region in terms of its floristic richness, with a 30% level of endemism and as an important nuclei to be preserved (Dávila et al., 1993; Jaramillo and González-Medrano, 1983; Rzedowski, 1978; Villaseñor et al., 1990; Vite et al., 1992). Several species of *Tillandsia* (Bromeliaceae), all of which present different adaptive strategies to arid environments (Meyran, 1973; Smith and Downs, 1977) are found within the valley: *T. atroviridipetala*, *T. circinnatoides*, *T. makoyana*, *T. pueblensis*, *T. califanii*, *T. dasyliiriifolia* and *T. recurvata*. *T. califanii* Rauh is an endemic species of the

Tehuacán-Cuicatlán-Zapotitlán valley system (Smith and Downs 1977), *T. dasyliriifolia* Baker is a species that can inhabit both mesic and xeric habitats (Flores-Cruz 1998), and *T. recurvata* (L.) L. a cosmopolitan species (Smith and Downs 1977). The three *Tillandsia* species exhibit morphological characteristics which enable them to withstand the stressful conditions posed by the semiarid environments: *T. dasyliriifolia* and *T. califanii* are epiphytes with impounding, absorbing trichomes and expanded sheath, and *T. recurvata* is an atmospheric epiphyte with absorbing trichomes (Pittendrigh, 1948).

Methods

We randomly selected five 50 m x 50 m study plots within the 'izotal' and determined the composition of the vegetation and the distribution patterns of all perennial plants. In each plot, we recorded all epiphytic bromeliads on *Beaucarnea gracilis*, and even when some individuals were on another hosts, this tree is by large their main phorophyte. *B. gracilis* individuals were marked and trunk diameter and height were measured; canopies were then divided into five zones. The individuals of *B. gracilis* were climbed and all observations were made by one person on the tree and supervised by one on the ground. Of the many factors that may contribute to determine the spatial distribution and abundance of the selected *Tillandsia* species, we only considered three: (i) the distance from the center of the host plant to the site on the branch where the *Tillandsia* individual was established; (ii) the height from the ground to where the *Tillandsia* was located on the *B. gracilis* individual; and (iii) the orientation (using a pocket compass) of each bromeliad relative to the host. We also estimated the size of the *Tillandsia* individuals, by means of their height and basal diameter (when present in clumps, they were also measured). The same measurements and observations were done in the "Cardonal", although in only four plots, and *Tillandsia* individuals

were located on the columnar cacti *Cephalocereus columna trajani*, *Neobuxbaumia tetetzo*, and their probable hybrids since there were no *B.gracilis* individuals present in this community, as stated above. Finally, we also noted the reproductive status (e.g., in flower, in fruit) and the main type of reproduction (i.e., sexual, vegetative) of the studied *Tillandsia*.

To explore the possibility that the epiphytes could have a preferential distribution on the *Beaucarnea* trees, data on specific location of height from soil and distance to the center of the tree and their relative orientation, after arcsine transformation were analyzed and compared with a X^2 -test. Morphometric characteristics (height, basal diameter) were compared using a linear regression analysis. Age structure and abundance of *Tillandsia dasyliiriifolia* were compared for both plant communities. All statistical analysis were done using the SAS statistical software package (SAS, 1987).

Results

Phorophytes

Ninety-two percent of the *Beaucarnea gracilis* trees at the "izotal" hosted *Tillandsia* individuals. According to Cardel et al. (1996) the discontinuous size class distribution of *B. gracilis*, suggest that these trees may have occupied a larger area in the past.

In the 'tetechera-cardonal' the three *Tillandsia* species coexist mainly on *Cephalocereus columna trajani*, and scarcely on *Neobuxbaumia tetetzo* and their hybrids. Although columnar cacti inhabit a wider area than *B.*

gracilis, only 47 percent had *Tillandsia* individuals, and almost all (83%) were on *C. columna trajani*.

The *N. tetetzo* that hosted *Tillandsia* were on the south facing slopes of hills, where more humidity and taller columnar cacti occur, due to the orographic effect of rain-shadow, which retains a higher humidity (Rzedowsky 1978). Seventy-three per cent of the three *Tillandsia* species were on the northwest section of their phorophyte, thus decreasing exposure to the sun, especially during the hotter months of the year. The latter being similar to the orientation of the pseudocephalium of *C. columna trajani* and the columnar cacti hybrids. Interestingly, the size and the number of clumps of *T. dasyliiriifolia* was smaller on *C. columna trajani* than those inhabiting *Beaucarnea* individuals (Fig. 2), independently of the hosts distribution. This can be attributed to both the small numbers of plants that can be supported on the column of columnar cacti, and to the smooth surface of the column which does not allow an easy establishment. Thus, *Tillandsia* individuals establish preferentially on damaged individuals showing reiterations, or where bird nest hollows are present.

The number of individuals per *Tillandsia* species differed between sites. In the 'izotal', *T. dasyliiriifolia* exhibited the highest number of individuals per *Beaucarnea gracilis* (50; 18 ± 13.5 *T. dasyliiriifolia* individuals per tree, mean \pm std deviation), followed by *T. califanii* (40; 14.56 ± 13.62 individuals), and the less abundant *T. recurvata* (10; 2.71 ± 3.4 individuals). The coefficient of dispersion (>1 for the three species) was indicative of a clumped distribution pattern due to the clonal reproduction of these species. In the 'cardonal', on the contrary, there were less *Tillandsia* individuals. We registered up to 16 *T. dasyliiriifolia* individuals (7.2 ± 6.18) per *C. columna trajani*, up to 19 (5 ± 6.4) per *N. tetetzo*, and less than one individual (0.94 ± 0.24) on the putative hybrids of these

columnar cacti. Both *T. califanii* (0.41 ± 0.58) and *T. recurvata* were very scarce.

Similarly, the size of the two most abundant *Tillandsia* species differed between sites. *T. dasyliriifolia* was larger in 'izotal' (33.88 ± 17.14 cm tall, 9.24 ± 4.27 cm at the base, $n = 138$) and relatively smaller in the 'cardonal' (25.56 ± 18.02 tall, 6.22 ± 2.59 cm at the base, $n = 9$), whereas *T. califanii* was larger in the 'cardonal' (31.2 ± 27.3 cm tall, $5.6 + 4.62$ cm at the base, $n = 5$) and smaller in the 'izotal' (21.06 ± 12.98 cm tall, 5.16 ± 2.99 cm at the base, $n = 216$). The differences in sample size, due to the number of plants available per site does not allow for a sound statistical analysis. However, we suggest that the smaller size of *T. dasyliriifolia* in the 'cardonal' is the result of increased exposure to the sun due to the lack of leaves in the phorophyte, and thus, decreasing growth and development rates.

The epiphytes, their vertical distribution and spatial orientation

Each *Tillandsia* species showed a significant allometric association (diameter at the base/height), and while *T. califanii* ($n = 383$, $r^2 = 0.7061$, $p < 0.001$) and *T. dasyliriifolia* ($n = 564$, $r^2 = 0.8169$, $p < 0.001$) were quite similar in size and tank morphology, *T. recurvata* was relatively smaller ($n = 124$, $r^2 = 0.9277$, $p < 0.001$).

Tillandsia in the study site

The *Tillandsia* on *Beaucarnea gracilis* exhibited differences in vertical distribution (Table 1). Most *T. recurvata* individuals (96.72%) were located on the lowest two levels ($\chi^2 = 202.24$, $df = 4$, $p < 0.001$), whereas the bulk of *T. dasyliriifolia* and *T. califanii* individuals (93%) were found on the lower three levels ($\chi^2 = 413.11$, $df = 4$, $p < 0.001$ and $\chi^2 = 307.97$, $df = 4$, $p < 0.001$, respectively), with a few individuals on the highest levels.

Furthermore, they were usually found close to the main vertical axis of *Beaucarnea* individuals (Table 2). Most *T. recurvata* (49.57%) were closest to the center of the phorophyte ($X^2 = 111.78$, $df = 4$, $p < 0.001$), followed by *T. califanii* (48.95%) ($X^2 = 408.98$, $df = 4$, $p < 0.001$), whereas most of *T. dasyliiriifolia* (44.56%) are slightly far from the center ($X^2 = 427.82$, $df = 4$, $p < 0.001$). The latter is the only species using the outer branches of *B. gracilis* (Table 2). Similarly, these epiphytes exhibited a preferential spatial orientation with respect to the center of *Beaucarnea* plants (Table 3). Two-thirds (66%) of the individuals of *T. recurvata* were on the west portion (NW, SW) of the phorophyte ($X^2 = 12.06$, $df = 3$, $p < 0.001$), whereas half (53.7%) of *T. dasyliiriifolia* individuals faced south (SW, SE) ($X^2 = 4.5$, $df = 3$, $p < 0.01$) and almost two thirds (59.5%) of *T. califanii* individuals faced north (NE, NW) ($X^2 = 22.04$, $df = 3$, $p < 0.001$).

Age structure of Tillandsia dasyliiriifolia

Age structure (estimated as plant height) in *Tillandsia dasyliiriifolia* differs both between communities and orientation (Fig. 2). The population of *T. dasyliiriifolia* in the 'izotal' is relatively homogeneous, we can find individuals of all sizes. On the contrary, in the 'cardonal', the population of *T. dasyliiriifolia* is not homogeneous, most being individuals in the smallest size classes.

Discussion

The Phorophytes

Low host-epiphyte specificity has been suggested for tropical forests (Zimmerman and Olmsted, 1992). However, epiphytes exhibit a certain degree of host preference, often shared by co-occurring epiphytes, indicating the suitability of a host plant for epiphyte colonization (Benzing,

1990; Hietz and Hietz-Seifert, 1995; Huidobro-Salas, 1988). The morphology of *B. gracilis* may explain the abundance of *Tillandsia*, its multiple branching pattern and rough bark suggest optimal sites for seed germination and seedling establishment, and also protection of direct light with the aciculated leaves. As mentioned above, there are several *Tillandsia* species in the study site (Meyran, 1973; Smith and Downs, 1977), and the extremes in phorophyte specificity are the endemic *T. califanii*, which was only observed on *B. gracilis* and *C. columna trajani*, and *T. dasyleriifolia*, which uses a variety of phorophytes throughout its distribution in Mexico. In the study site, *T. dasyleriifolia* and *T. califanii* were found exclusively on *Beaucarnea* and columnar cacti, whereas *T. recurvata* was also observed on *Cercidium praecox* (Leguminosae) located in the thorn scrub plant community and previously studied by Montaña et al. (1997) who considered it as a structural parasite. On this host, the three *Tillandsia* do not co-occurred, so we did not compare data regarding this host.

The epiphytes, their vertical distribution and spatial orientation

Despite their size, the *Tillandsia* plants are well supported by *Beaucarnea* and *Cephalocereus*. However, *T. dasyleriifolia* has been reported growing as adult plants on the soil of the tropical flooded forest ('tintal') of southeastern México (Zimmerman and Olmsted, 1992). Even though *T. recurvata* has been regarded as an structural parasite of *C. praecox* (Leguminosae) (Montaña et al., 1997), the phorophyte-*Tillandsia* interaction does not seem to exert apparent damage to the studied phorophytes, as suggested by Benzing (1990).

The preferential height and spatial orientation might be based on physiological aspects or mechanical adaptations of these species, the morphology of their tank forms or the atmospheric adaptations of these *Tillandsia*, might have played a role in habitat selection, particularly *T.*

dasyliiriifolia present a redish color in its leaves when inhabiting this semiarid land and present a greener color when inhabiting a more shaded and humid habitat (Huidobro-Salas, 1988).

Although an overlap may exist among the *Tillandsia* species we found a certain preference in their distributions. *T. recurvata* occurs mostly on SW side on the lower strata, and close to de center of the host plant. *T. dasyliiriifolia* occurs mostly at the SE quadrant on the lower strata, and *T. califanii* occurs mostly at the NE quadrant on the lower strata. Thus, the vertical distribution of these epiphytes coincides with the differential and relatively constant distribution within the phorophyte (Johansson, 1974; Bennet, 1987) and is an indicative of spatial exclusion among them, which may help to decrease interspecific competition (Campbell, 1995).

Age structure of Tillandsia dasyliiriifolia

The higher numbers of individuals of these *Tillandsia* species is formed by young plantlets, as judged by the allometric estimations. Size distributions with gaps in the smaller classes are commonly found for perennial plants growing in arid and semiarid regions (e.g., Barbour (1969); Fonteyn and Marshall (1981)). In our example, the small sizes are highly represented due to asexual reproduction. As only a few isolated, large *T. dasyliiriifolia* are present (supposedly originated from seed), our results suggest that clonal growth is the dominant form of reproduction in these species, as happens with other species of arid land environments (Midgley et al., 1997; Price and Marshall, 1999).

The architecture and surface characteristics of host plants is probably the determinant factor in the survival of *T. dasyliiriifolia*. Columnar cacti are very smooth and practically lack horizontal structures, whereas *Beaucarnea gracilis* exhibits a rough bark and a conspicuous branching pattern. Thus, it would be difficult for large, heavy *T. dasyliiriifolia* individuals to remain attached to columnar cacti, only reiterated branches

or bird nest-holes would provide the adequate surface for the survival for large individuals.

The Tillandsia species and their host relationship

Studies related on the distribution and abundance of epiphytes on tropical areas have been made, despite the difficulties it has represented e.g. the height of tropical trees, the abundance of several species of epiphytes on one type of phorophyte, (Bennet, 1987; Benzing, 1990; Hietz and Hietz-Seifert, 1995a). Nevertheless, advances have been made observing different aspects in the establishment and relationship within its host, that in some cases may be contradictory . A positive phorophyte-epiphyte relationship is found (Johanson, 1974; Schlesinger and Marks, 1977; Bennet, 1987) whereas Hietz and Hietz-Seifert (1995a) found no evidence of specific host preference; sometimes the size of branches allow their establishment (Benzing and Seeman, 1978; Zimmerman and Olmsted, 1992; Kernan and Fowler, 1995); or microclimatic gradients influence the epiphytic vegetation on the host trees (Hietz and Hietz-Seifert, 1995b) a selection due to bark texture or chemical composition may (Johanson, 1974) or may not (Kernan and Fowler, 1995) make a significant difference. Another set of studies have shown a probable effect on nutritional piracy and host decline (Benzig and Seeman, 1978) or seen as structural parasites (Montaña et al., 1997). Regarding the reproductive status, Zimmerman and Olmsted (1992) reported that the establishment of epiphyte seeds may start on a phorophyte but their latter growth ends on the ground. Such observations might indicate that several characteristics of the *Tillandsia* species must be taken into account such as their mechanical adaptations and physiology that have enable this genera to adapt to different environments.

Studies focused on the particular conditions of a semiarid environment regarding the spatial distribution of epiphytes are needed.

Conclusions

The spatial distribution of populations depend on different ecological aspects that enable their establishment. *Tillandsia califanii* and *T. dasyliriifolia* were species-specific in host selection (*B. gracilis*) within the 'izotal'. However, these *Tillandsia* preferentially used columnar cacti as hosts in the 'cardonal', which is probably the result of the relative abundance of the latter and the transformation (e.g., intense plant extraction for commerce, constant grazing by goats, land clearing for cultivation) of areas formerly occupied by *B. gracilis* (Cardel et al., 1996). The patchy distribution of these epiphytes, particularly *T. dasyliriifolia* and *T. califanii*, reflects the distribution of preferred hosts. *Tillandsia recurvata* was the only bromeliad studied that occupied another host (*Cercidium praecox*), studied previously by Montaña et al. (1997).

On the other hand, the endemic status of *T. califanii* and its hosts deserves special attention in order to preserve them *in situ*. These represent particular problems for conservation, as changes in host demography, which can help to predict their future distribution and conservation status, will indeed affect epiphyte demography and survival (Norton et al., 1995); although the wind-dispersed seeds of the *Tillandsia* studied may allow their survival in a fragmented environment if their host plants are present.

Considering that in mesic environments, species abundance is high and diverse and less variable on arid and semiarid environments (Johanson, 1974; Benzing, 1990; Neider et al., 1999). It has been interesting to observe co-occurring epiphytes sharing two particular phorophytes in

such a harsh environment and their abundance due to the availability of space in their host.

Acknowledgments

We thank M. Flores (UAM) and E. Aguirre (UNAM) for bromeliad identification, and B. Murga, E. Martínez, H. Moya and J. Altamira for their help during field work. The study was supported by Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (143.03.24 to MDGS), CONACYT (1259-N9204 to VRG), and Instituto de Ecología, A.C. (902-16). We would also like to thank two anonymous reviewers for their helpful comments on the manuscript.

References

- Barbour, M. G. 1969. Age and space distribution of the desert shrub *Larrea divaricata*. *Ecology* 50:679-685.
- Bennet, B. C. 1987. Spatial distribution of *Catopsis* and *Guzmania* (Bromeliaceae) in southern Florida. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 114: 265-271.
- Benzing, D. H. 1980. *The biology of bromeliads*. Mad River Press, California.
- Benzing, D. H. 1990. *Vascular epiphytes*. Cambridge University Press, New York.
- Benzing, D.H. and Seeman, J. 1978. Nutritional piracy and host decline: a new perspective on the epiphyte-host relationship. *Selbyana* 2: 133-148.
- Campbell, D. J. 1995. Detecting regular spacing in patchy environments and estimating its density using nearest neighbour graphical analysis. *Oecologia* 102:133-137.
- Cardel, Y., Rico-Gray, V., García-Franco, J. G. and Thien, L. B. 1996. Ecological status of *Beaucarnea gracilis* Lem. (Nolinaceae):

an endemic species of the semiarid Tehuacán Valley, Mexico. *Conservation Biology* 11:367-374.

- Dávila, P., Villaseñor, J. L. , Medina, L. R., Ramírez, R., Salinas, T. A., Sánchez-Ken , J. and Tenorio. L. P. 1993. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Listados Florísticos de México, no. 10. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- Flores-Cruz, M. 1998. Flora genérica de la familia Bromeliaceae en el estado de México. M. Sc. Thesis, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- Fonteyn, P. J. and Marhall, B. E. 1981. An experimental analysis of structure in a desert plant community. *Journal of Ecology* 79:1073-1084.
- Gentry, A. H. and Dodson, C. H. 1987. Diversity and biogeography of neotropical vascular epiphytes. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 74:205-233.
- Hietz, P. and Hietz-Seifert, U. 1995a. Composition and ecology of vascular epiphyte communities along an altitudinal gradient in central Veracruz, Mexico. *Journal of Vegetation Science* 6:487-498.
- Hietz, P. and Hietz-Seifert, U. 1995b. Structure and ecology of epiphyte communities of a cloud forest in central Veracruz., Mexico. *Journal of Vegetation Science* 6:719 -728.
- Holbrook, N. M. 1991. Small plants in high places: the conservation and biology of epiphytes. *Trends in Ecology and Evolution* 6:314-315.
- Huidobro-Salas, M. E. 1988. El género *Tillandsia* (Bromeliaceae) en el estado de México. B.Sc. thesis, ENEP-Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Jaramillo, L. V. and González-Medrano, F. 1983. Análisis de la vegetación arbórea de la Provincia Florística de Tehuacán-Cuicatlán. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 45:49-64.
- Johansson, D. 1974. Ecology of vascular epiphytes in western African rain forest. *Acta Phytogeographica (Uppsala)* 59:1-129.
- Kernan, C. and Fowler, N. 1995. Differential substrate use by epiphytes in Corcovado National Park, Costa Rica: a source of guild structure. *Journal of Ecology*. 83:65-73.

- Meyran, G. J. 1973. Guía botánica de cactáceas y otras suculentas del valle de Tehuacán. Sociedad Mexicana de Cactología, A. C., México.
- Midgley, J.J., Cowling, R.M., Hendricks, H., Desmet, P.G., Esler, K. and Rundel, P. 1997. Population ecology of three succulents (Aloe and Pachypodium) in the arid western cape decline key stone species. *Biodiversity and Conservation* 6:869-876.
- Montaña, C., Dirzo, R. and Flores, A. 1997. Structural parasitism of an epiphytic bromeliad upon *Cercidium praecox* in an intertropical semiarid ecosystem. *Biotropica* 29:517-521.
- Nieder, J., Enwald, S. and Barthlott, W. 1999. Patterns of Neotropical epiphyte diversity. *Selbyana* 20: 66-75.
- Norton, D. A., Hobbs, R. J. and Atkins, L. 1995. Fragmentation, disturbance and plant distribution: mistletoes in woodland remnants in the western Australian wheatbelt. *Conservation Biology* 9:426-438.
- Pittendrigh, C. S. 1948. The bromeliad-*Anopheles*-malaria complex in Trinidad. I. The bromeliad flora. *Evolution* 2:58-89.
- Price, E.A.C. and Marshall, C. 1999. Clonal plants and environmental heterogeneity. *Plant Ecology* 141:3-7.
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Editorial LIMUSA, México.
- SAS. 1987. SAS guide for personal computers. Version 6, SAS Institute, Inc. Cary, North Carolina.
- Schlesinger, W. H. and Marks, P. L. 1977. Mineral cycling and niche of Spanish moss *Tillandsia usneoides* L. *American Journal of Botany* 64:1254-1262.
- Smith, L. B. and Downs, R. J. 1977. Flora Neotropica. Monograph 14 Part 2. Tillandsioideae (Bromeliaceae). Hafner Press, New York.
- Vite, F., Zavala-Hurtado, J. A., Armella, M. A. and García-Suárez, M. D. 1992. Regionalización y caracterización macroclimática del matorral xerófilo. Section IV-8-3. In: Gutiérrez de Mac Gregor, M. T., Cell-Hurtado, A. and García Fuentes, A. (eds.), Atlas Nacional de México, 2: tópicos fitogeográficos (provincias, matorral xerófilo y cactáceas). Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.

Villaseñor, J. I., Dávila, P. and Chiang, F. 1990. Fitogeografía del valle de Tehuacán, Cuicatlán. Boletín de la Sociedad Botánica de México 50:135-149.

Zavala-Hurtado, J. A. 1982. Estudios ecológicos en el Valle de Zapotitlán, Puebla I. Clasificación numérica de la vegetación basada en atributos binarios de presencia ausencias de las especies. Biótica 7:99-119.

Zimmerman J. K. and Olmsted, I. C. 1992. Host tree utilization by vascular epiphytes in a seasonally inundated forest (tintal) in Mexico. Biotropica 24:405-407.

Table 1. Height distribution of the three *Tillandsia* species on *Beaucarnea gracilis* individuals.

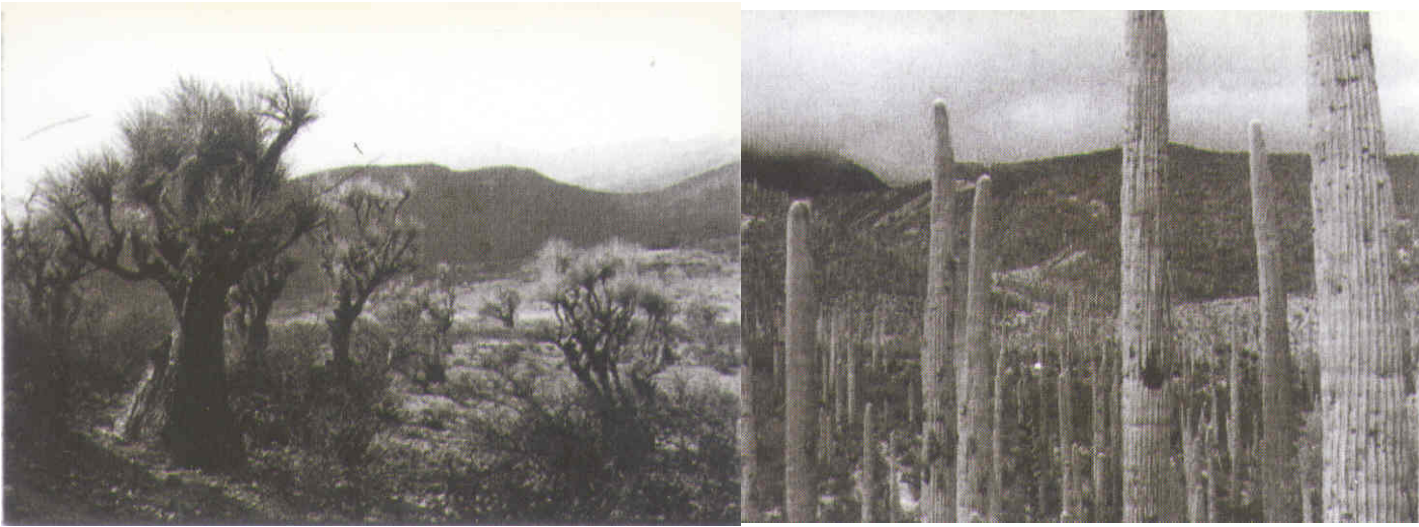
Height on the tree (m)	Frequency / %		
	<i>T. califanii</i>	<i>T. dasylirifolia</i>	<i>T. recurvata</i>
Very low (1.40-2.49)	123 / 32.37	166 / 30.68	46 / 37.20
Low (2.50-3.59)	158 / 41.58	225 / 41.59	72 / 59.02
Medium (3.60-4.69)	78 / 20.53	111 / 20.52	4 / 3.28
High (4.70-5.79)	18 / 4.74	31 / 5.73	0 / 0
Very high (5.80-6.89)	3 / 0.79	8 / 1.48	0 / 0

Table 2. Spatial distribution of the three *Tillandsia* species, based on their location from the axis of *Beaucarnea gracilis* individuals.

Distance (m) from the tree axis	Frequency / %		
	<i>T. califanii</i>	<i>T. dasylirifolia</i>	<i>T. recurvata</i>
Very close (0-0.59)	187 / 48.95	152 / 27.09	57 / 49.57
Close (0.60-1.19)	130 / 34.03	250 / 44.56	21 / 18.26
Medium (1.20-1.79)	50 / 13.09	99 / 17.65	31 / 26.96
Far (1.80-2.39)	15 / 3.93	54 / 9.63	6 / 5.22
Very far (2.49-2.99)	0 / 0	6 / 1.07	0 / 0

Table 3. Spatial distribution (orientation) of the three *Tillandsia* species on *Beaucarnea gracilis*.

Orientation	Frequency / %		
	<i>T. califanii</i>	<i>T. dasylirifolia</i>	<i>T. recurvata</i>
NE	117 / 31	134 / 24	21 / 17
NW	111 / 29	127 / 22	38 / 31
SE	97 / 25	161 / 29	22 / 18
SW	58 / 15	142 / 25	43 / 34
Total	383 / 100	564 / 100	124 / 100



A

B

Figure 1. Two different plant associations at the Zapotitlán Valley, Puebla Mexico. A) The “Izotal” where *Beaucarnea gracilis* trees are the principal component. B) The “Cardonal” plant community where *Cephalocereus columna trajani* is observed.

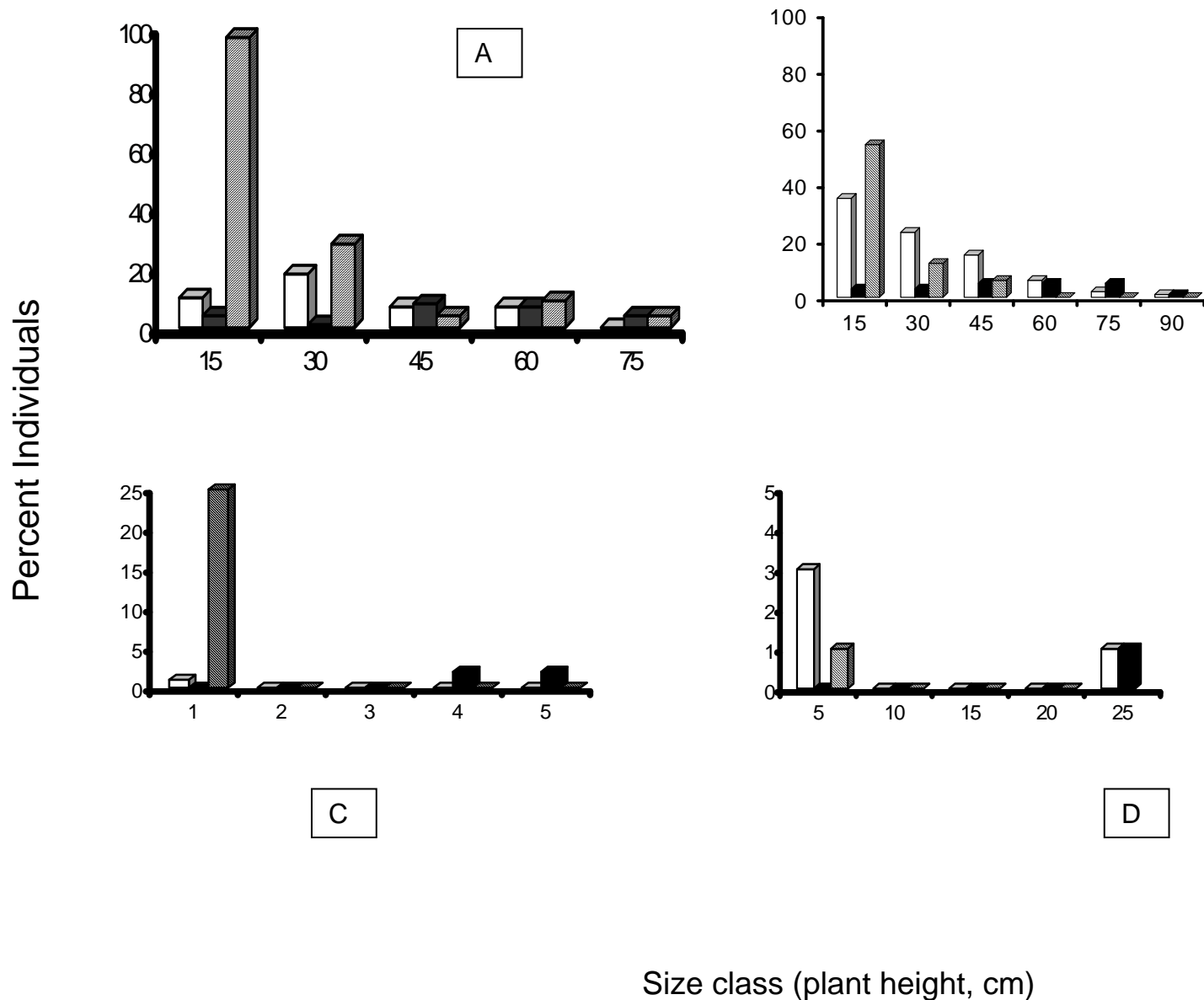


Figure 2. Age structure of *Tillandsia dasyliiriifolia* growing at the Izotal of *Beaucarnea gracilis* (upper row) and at the Cardonal of *Cephalocereus columna trajani* (lower row). Plants facing north (A and C) or south (B and D) were recorded as individuals (open bars), mother plants (solid bars) or juveniles growing at the base of mother plants (dashed bars). All graphics have the same axis parameters as indicated on the outer labels.

CAPITULO III.



Germinación y establecimiento de *Tillandsia dasyliriifolia* Baker (Bromeliaceae) en el Valle Zapotitlán, Puebla México. (manuscrito)

Germinación *in vitro* y propagación clonal de la especie endémica *Tillandsia califanii* Rauh. (Bromeliaceae) México. Selbyana 27:54-59. (2006)



SEED GERMINATION AND ESTABLISHMENT OF
TILLANDSIA DASYLIRIIFOLIA BAKER (BROMELIACEAE) AT THE
SEMIARID ZAPOTITLAN VALLEY, PUEBLA MEXICO.

M.D. GARCIA-SUAREZ^{1*} V. RICO-GRAY², GUILLERMO LAGUNA *f* .
MARGARITA COLLAZO *f f* AND, HÉCTOR SERRANO³.

Departamentos de ^{1*}Biología y ³Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana
Iztapalapa, Ave. Atlixco 186. México, D.F. 09340, México

²Departamento de Ecología Vegetal, Instituto de Ecología A.C., Apdo. 63, Xalapa, Ver. 91000
México.

f, Laboratorio de Estructura y Fisiología de Plantas. Facultad de Ciencias, Ciudad
Universitaria. Universidad Nacional Autónoma de México.

f f Laboratorio de Desarrollo en Plantas, Facultad de Ciencias, Ciudad Universitaria.
Universidad Nacional Autónoma de México.

Abstract

We studied reproductive strategies of the epiphyte *Tillandsia dasyliiriifolia*, its seed germination, seedling establishment and evaluated the production of offsets. The field study was carried out at the Zapotitlán Valley, in the central semiarid zone of Mexico. Evaluations of sexual and asexual propagation were done at the field. The percentage of seed germination was obtained in response to dark and light conditions, scarification treatment, light quality and giberellic acid. The establishment of the seedlings under different nutrient conditions was quantified. In the field, germination and seedling establishment were observed under the natural harsh conditions of the semiarid environment of the Zapotitlán Valley in two different plant communities, the Izotal and Cardonal, in order to understand how this epiphyte, has been able to establish within this semiarid land. *Tillandsia dasyliiriifolia* prove to exhibit a successful clonal growth and sexual reproduction, produces abundant seeds, it germinates as a positive photoblastic and their seedling growth and establishment are restricted by environmental and physiological factors.

Introduction

Tillandsia dasyliriifolia Baker is an epiphyte bromeliad, distributed from Florida, United States of America down to South America and has been established on different hosts depending on the type of vegetation where it occurs, showing a certain preference within the type of vegetation for establishment. It has been observed in the pine-oak forest on *Quercus*, *Juniperus* and leguminous trees in the state of Mexico (Rzedowski, 1978; Huidobro, 1988; Flores, 1998) whereas in tropical deciduous forest it grows on the Tintales trees when young and in the floor at adult stage at Quintana Roo, Mexico (Zimmerman and Olmsted, 1992).

Tillandsia dasyliriifolia can survive under harsh environments in the arid tropical scrub as is the case of the Zapotitlán Valley in Puebla, Mexico. Here it grows at the *Beaucarnea gracilis* (Nolinaceae) trees as their main host due to its multiple branches as well as on the columnar cacti *Cephalocereus columna trajani*, as a second alternative host, where it co-occur with *T. califani* Rauh and *T. recurvata* Linnaeus (Linnaeus). (García Suárez et al., 2003).

Several species of *Tillandsia* can be found within the valley: *T. atroviridipetala* Matuda, *T. circinnatoides* Matuda, *T. makoyana* Baker, *T. pueblensis* L.B. Sm., *T. califanii* Rauh, *T. dasyliriifolia* Baker and *T. recurvata* (L.) L, but only *T. califanii* is an endemic species of the Tehuacán-Cuicatlán-Zapotitlán valley system (Smith and Downs, 1977).

Rzedowski (1978) classified the region as the Tehuacán-Cuicatlán floristic province, part of the Mexican erophitic phytogeographic region and, in terms of its floristic richness, is considered as a unique region and one of the most important centers of plant diversity in Mexico (IUCN 1990). This area presents a 30% endemism and has been considered as an important nuclei to be preserved

(Dávila et al., 1993; 1995; Jaramillo and González-Medrano, 1983; Rzedowski, 1978; Villaseñor et al., 1990; Vite et al., 1992).

The distribution and abundance of epiphytic bromeliads have been described as clumped and patchy (e.g. Benzing, 1981; Bennet, 1986; Neider et al., 2000; García Suárez, et.al. 2003). Such patterns might be due to environmental factors: humidity, temperature, light, orientation and altitude (e.g. Bennett 1987; Hietz and Hietz-Seiffert, 1995a,b; Zotz and Vollrath, 2002; García-Suarez et al., 2003); or their germination and establishment on the hosts crown due to a more hospitable conditions to specific epiphytes (Johanson, 1974; Benzing, 1978; Bennett, 1987). Within the Valley of Zapotitlán, *T. dasyliiriifolia* shows a clumped distribution with certain habitat preference in SE, SW orientation at the *Beaucarnea* tree or NW at the columnar cacti *Cephalocereus columna trajani* (García-Suárez et al., 2003).

Here we examined the reproduction of *T. dasyliiriifolia* at the valley of Zapotitlán de las Salinas, Puebla, considering its sexual and asexual reproductive strategies. We also evaluated its seed germination and seedling establishment under natural conditions. Laboratory bioassays evaluated the effect of acid scarification, light conditions, gibberellic acid on seed germination and nutrient effects on seedling establishment which enable its survival, growth and development for a later establishment in their natural environment.

Study site.

The study was carried out at the valley of Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México, 18°20'N, 97°28'W, close to the limits of the state of Oaxca. This valley is located within the Tehuacán-Cuicatlán Valley in central Mexico, with a surface of ca. 10,000 km². The climate is dry (García, 1987), with an annual rainfall average of 380 mm and has two rain periods the first during the summer months of June through August (sometimes September) the second period is later during the

winter with scarce rains on December. Temperature changes throughout the year being the hottest during April-May at 40° C, with a mean annual temperature 20° C. (Zavala-Hurtado, 1982).

The vegetation association where samples were taken was from the 'izotal' plant community (with *Yucca periculosa*, *Agave marmorta*, *Beaucarnea gracilis*, *Echinocactus platyacanthus*, *Castela tortuosa*, *Caesalpinia melanadenia* and *Hechtia podantha* (Zavala-Hurtado, 1982). Here *T. dasyliriifolia* are hosted by *Beaucarnea gracilis* trees, was also observed in the “cardonal” living on the phorophyte *Cephalocereus columna trajani*, a columnar cactus as described by García-Suárez et al. (2003).

Materials and Methods

Plant registration

In two permanent 50 X 50 m² quadrants at the Izotal community, all *Tillandsia* inhabiting at *Beucarnea gracilis* host trees were marked, measured in size, and quantified in number. Throughout a year phenology aspects of flowering and seed production periods were registered.

Seeds

Seeds were obtained from ripe capsules of different *T. dasyliriifolia* specimens randomly collected from their natural populations, after seed maturation just before wind dispersal, on of February during 1996. The spikes were measured, capsules were counted, seeds were measured and its production was calculated.

Seeds were stored at room temperature on black air tight bags in the laboratory during one year before germination assays started. Seeds were disinfested by immersion in 10% commercial hypochloride (60 gL⁻¹ active Cl₂) then washed three times in sterile distilled water.

Germination assays

In vitro germination assays.

Germination assays at laboratory were performed with seeds sown in 9 cm Petri dishes with 15 mL sterilized 6% agar-gel (Sigma Chemical Co.) in distilled water, with five replicates of 50 seeds for germination, placed on a growth chamber with 29/15° C thermoperiod and 16/8 hours light/ dark photoperiod. A 2 x 2 factorial design testing acid scarificated /non scarificated seeds and two light conditions was used. For scarification, 10 lots of 50 seeds each one were immersed in concentrated sulphuric acid for 1 min and then washed thoroughly in distilled water. Seeds were disinfested by immersion in 10% commercial bleach for 1 min then washed again with distilled water. Five seed lots were exposed to complete light and the other five were wrapped on aluminium foil and maintained in darkness. Non scarified lots were treated as the scarified group under light/darkness photoperiod and complete darkness. Another germination experiment proved different light quality using filters for green, blue, red, far red light, complete light, darkness and a last lot in media containing 500 ppm giberellic acid (GA) and maintained under darkness, (3 lots of 50 seeds each were used). Germination was assumed when the epicotyle reached 1 mm long; percentage of seed germination was registered weekly.

Ex vitro germination assay

In order to evaluate the effect of substrate on germination of *T. dasyliriifolia*, bark pieces from the natural phorophytes *B. gracilis* were taken to the laboratory and 50 disinfested scarified seeds were sown on it and compared with those germinated on agar-gel medium. Seed germination percentages were obtained and followed up to 150 days, with three replicates.

In situ germination assay

During the 2003 rainy season, two lots of 1200 disperse-ready seeds were either sulphuric acid scarified or non scarified, sown on 48 Petri dishes with 6% agar-gel, then placed on to the *Beaucarnea gracilis* trees directly at the Izotal community, on four different orientations N, E S, W at aproximately at 2 m high where branches initiate, the previously reported preferential height for *Tillandsia* growth (García-Suárez et al., 2003). Germination was recorded one month later.

Seedlings establishment assays

In vitro seedlings assays.

In order to evaluate the mineral nutrition requirements of *T. dasyliriifolia* seedlings, 250 of them were maintained on five different agar-gel media: tap water with agar as control (A), complete Hoagland's solution Medium (AH); Hoagland calcium free (Ca-free); Hoagland iron free (Fe-free) or Hoagland phosphorous free (P-free). Seedlings were maintained on a growing chamber during six months with environmental conditions as described above, here a germination percentage was first obtained and later growth as seedling survival was registered as well as percentage.

In situ seedlings assays

This bioassay was done at the field, with seedlings that were obtained under the most favorable conditions in the laboratory and then taken to the Zapotitlán Valley, where 30 seedlings were placed on agar-gel dishes (to maintain humidity) on five *B. gracilis* trees on four orientations, N, E, S, W at 2 m high. Results were evaluated at 80, 100, 130 and 155 days after implantation on the trees.

In situ germination and seedlings observations and quantification

Observation of germination and seedlings growth in the field were registered after implantation on the trees, counted at the described times, measured in number and percentage of germinated seeds, the seedlings were measured in size and number of leaves and then classified in categories, at the laboratory they were established on *in vitro* conditions with agar-gel medium for further growth and development observations.

Statistical analysis

Data from *in vitro* and ex vitro germination assays were analyzed statistically by chi square test facility of Microstat II software (Microsoft, ver. 3.0). Those from *in vitro* and *in situ* establishment assays were analyzed by the ANOVA array as described in SAS (1987).

Results

Plant propagation status germinative and vegetative

T. dasyliriifolia, capable to inhabit a harsh environment as the Valley of Zapotitlan, presents a successful asexual reproduction producing ramets from 7 to 11 plants at the base of the mother plant. It produces a branched spike 80 cm in height with 20 to 40 sclerified capsules. A total of 12,500 seeds per inflorescence can be produced, which are predominantly dispersed by wind due to its long coma hairs (Fig. 1a).

Phenology: flowering

Flowers initiate their growth on October-November, and take six months to mature, open during late April-May when pollination occurs and capsules are formed with their seeds, since this period, they do not open until nine months later on February-March of the next year, when they are dispersed.

Seeds

Seeds measured 1.5 mm and with coma hairs up to 4 mm in length (Fig. 1b). They can anchor on *B. gracilis* trees and *C. columna trajani* columnar cacti as their principal hosts in the Valley, but have also eventually been observed at *Bursera aloexylon* Engelm trees.

Germination *in vitro* and *ex vitro*

As can be seen in Fig. 2, *T. dasyliriifolia* proves to be a positive photoblastic species. When compared to dark exposed seeds, light exposed treatment give more than twice the germination percentage ($p < 0.05$). Scarification treatment increased germination of *in vitro* light germinated seeds up to 90% ; non scarified light exposed seeds reached a 63% $p < 0.005$. Some scarified seeds germinated on darkness, acid scarification in some way increased germination capacity either in light or darkness treatments.

The use of a different substrate as the natural *B. gracilis* tree-bark show that germination of scarified seeds do not significantly increases the germination percentage of as happened in the *in vitro* scarified seed treatments ($p > 0.05$). In this case, a gross 60% germination was obtained, resembling the effect of agar-gel in non- scarified-light treatment.

Seed germination without scarification under different light conditions (Fig. 3), demonstrated that *T. dasyliriifolia* is a positive photoblastic species where red light induced 90% germination ($p < 0.05$), complete light treatment reached 60%, and darkness plus 500 ppm of gibberelic acid (GA) induced up to 56% germination after 150 days.

In order to obtain the most important variable on *in vitro* seed germination, we performed an ANOVA analysis. Both treatments: light and scarification have a direct effect on the germination response of *T. dasyliriifolia* but neither have a priority. Even though there was no significant impact of scarification or light on the germination of *T. dasyliriifolia* partial F analysis indicated that light had a preferential role on germination (4.176 vs 5.14 for light effect, 2.12 vs 4.76 for scarification and 0.53 vs 3.09 for interaction of critical values), mainly when red light is used.

In situ germination and seedlings

At the field, no seed germination on in the *B. gracilis* trees was observed, probably due to the excessive heat climate on the different orientations proven. The seedlings that were carried from laboratory to the field were almost lost except for those oriented NW. Due to the low survival, we could not obtain representative results. Natural seed germination at the field was not observed, and when seedlings were observed, they were hardly distinguishable, as they resemble to those of *T. califanii* species (García Suárez et al., 2006).

Seedling growth on the capsules of *T. dasyliriifolia* infructescence occurs in the field, each spike has 20-40 capsules and found up to two seedlings per capsule. (Fig. 4a). The plantlets were measured and classified in five ranks, the seedling population here growing, showed a normal size distribution (Fig. 4b).

Seedlings at the laboratory

Seed germination in *T. dasyliriifolia* has been considered as a nutrient independent process, although seedling survival percentage might be affected by different culture media (Fig. 5). Seedlings grow well under artificial conditions if humidity is maintained. Growth is very slow or diminished by culture medium; after six months oxidation of seedlings tissue was observed. Seedlings appearance varied notably with different nutrient media (Fig. 5).

Complete Hoagland medium (AH), maintains almost half of seedlings after germination and almost 30% when compared with control (A), 72%. These data indicate an inhibitory effect of some component(s) of the complete Hoagland medium. Iron can be concluded as a determinant component on the inhibition of germination and seedling maintenance since a 70% of germination and seedling survival ($p < 0.05$) is obtained in iron free Hoagland medium (Fe-free). On the other hand, Ca^{2+} is a required nutrient element since its absence drastically affects germination and seedling maintenance, the media lacking this component (Ca-free) has the lowest germination percentage and seedling maintenance ($p < 0.001$).

Seedlings and plantlets growth, after the appearance of leaves and 3 mm in height, were consistently maintained *in vitro* under agar-gel medium growing conditions. They were observed measured in plant size and number of leaves through 155 days, until plantlets reached the 8 leaf state. Plantlets grew well with no further needs except for humidity supplemented by agar-gel (Fig. 6).

Discussion

Tillandsia dasyliiriifolia is a tank bromeliad, well adapted to different environmental conditions (Rzedowski, 1978; Huidobro, 1988; Flores, 1998; Zimmerman and Olmsted, 1992). At the Valley of Zapotitlán, has a large production of young individuals producing ramets of 7 to 11 plants in their base; clonal growth enables the maintenance of the population in their hosts. Floral growth and capsule maturation in this *Tillandsia*, as well as in other species, takes a period of several months, although it has been proven that blooming can be accelerated under artificial conditions (Isley, 1987), and has been reported floration for this species in a mesic environment at pine-oak forest from January-April instead of April-May (Flores, 1998).

The seed production, as for other bromeliads is high, 12,500 seeds per inflorescence which coincides with the seed production of other *Tillandsia* species (Benzing, 1990). Their tiny seeds, have long coma hairs 4 mm in length, that enable them to be carried by wind after maturation (Benzing, 1990; van der Pijl, 1982) which might allow their later establishment within a preferential height and orientation, as seeds anchor with its coma hairs in the crown of the *B. gracilis* trees or at the *C. columna trajani* columnar cacti at the Zapotitlán Valley (García Suárez et al., 2003).

Seeds do not germinate immediately after maturation of the capsules; they seem to be ready to germinate after wind dispersed with the first rains which will provide the necessary humidity (Evenary et al., 1982; Christensen et al., 1996; Gutterman et al., 1998). It is rare to have an appropriate combination of humidity and light for a period long enough to allow the establishment of the seeds of *Tillandsia* species. At the Zapotitlán valley the amount and number of rain days may vary between years. Seeds need water in order to germinate, as shown in the bioassays with agar-gel (Fig. 2). This data must be corroborated *in situ* in an appropriate assay since we were unable to do it in a simple observational strategy.

In the field, germination of undispersed seeds on the spikes of the *T. dasyliiriifolia* occurred, as the sclerified capsules might retain humidity together with the coma hairs of the seeds, just after the rains start; such seedlings do not guarantee their posterior establishment as far as it has been observed. In the Negev Desert, approximately 40 plant species retain their seeds in their lignified pods, capsules or inflorescence to protect them from seed predation (Gutterman, 1993). An extension of this prospection could be applied to *Tillandsia dasyliiriifolia* although the *Tillandsia* seeds seem to avoid predation by ants and other granivorous species due to the morphology and the presence of coma hairs in their seeds, as is the case of other seeds described by Gutterman (1993), nevertheless, seed loss occurs, not evaluated in this study, and as suggested by Nadkarni and Matelson

(1989) herbivores and birds might use them as nesting material or seed loss simply is due to their easy removal by wind and rain. Seed retention and their germination within the capsule allow their dispersion by rain in small numbers year after year (Evenary et al., 1982; Gutterman, 1993). This germination within the same plant is not exclusive of *T. dasyliriifolia*, Flores (1998) observed it for other *Tillandsia* species from Mexico like *T. achyrostachys* and *T. recurvata* at the State of Mexico and at the Zapotitlán Valley, small plantlets were observed as well within the ball morphology for *T. recurvata* (García-Suárez, pers obs.).

Most xeric epiphytes are high light demanding plants (Benzing, 1978), they require light for germination (Smith and Downs 1974) and remain dormant when irradiated with 700-750 nm light (Mayer and Poljakoff-Mayber, 1975; Benzing, 1978). A suitable host might turn to be inhospitable where sun or rain shadows or levels near infrared radiation inhibit germination or growth. *T. dasyliriifolia* proved to be a positive photoblastic species, germinating positive at laboratory conditions under complete light, red light and darkness with giberellic acid, and can be considered as well adapted to xeric environment where there is high light. These data coincide with the observations of Smith and Downs (1977) indicating that most bromeliads require light for germination. Scarification treatment improved up to 90% germination and enabled to germinate seeds in 10% under darkness. However, when data were analyzed for major effect, apparently scarification has a minor facilitating role.

At the *B. gracilis* host *T. dasyliriifolia* occupies all vertical and axial strata suggested by García Suárez et al. (2003) thus, being the most abundant species in these trees, proving its success in their colonization process. *T. califanii* a co-occurring species within the same host has a photoblastic indistinctive germination with certain viability damage on their embryo and is represented with lesser abundance and either in vertical or axial strata (García Suárez et al., 2003; 2006).

Bennet (1987) considers that bark texture, porosity, chemical composition and stability are some of the characteristics that influence the presence and abundance of epiphytes on a host tree. Here we demonstrated that the use of *B. gracilis* bark under laboratory conditions allowed seed germination in a 60% after a scarification treatment, which previously proved to improve germination; and although humidity is maintained by the suberized peridermis of this woody monocotyledon a decrease in percentage germination was registered with respect to the agar-gel substrate (where germination could reach 90%)., suggesting that the moisture retained by bark might be lower than the agar-gel substrate.

Our field attempts clearly indicated that seed germination is a rather rare event even though there is a high seed number produced and their rapid response to moisture conditions as happens for other species (Bewley and Black, 1994). In order to germinate, water availability is an important factor for epiphytic bromeliads (Benzing, 2000), the seed coat of *Tillandsia* species although not thick, is sclerified, thus avoiding excessive dehydration (Benzing, 1990). In semiarid lands, water is a limiting factor, sporadic rains and morning dew at the Zapotitlán Valley provided the necessary humidity to allow germination and to maintain seedlings on the inflorescence spikes and on the bark of the phorophytes. There are no bryophytes nor lichens present that might facilitate germination and establishment as happens in mature forests (Nadkarni, 2000). At the Izotal plant community, dispersed seeds attach and grow independently from their mother plant at *Beaucarnea gracilis* tree. Even when seed germination was not directly detected, seedlings might be confused at first sight with those of *Tillandsia califanii*, a sympatric species, due to its resemblance at this stage (García Suárez et al., 2006).

Seedlings can be maintained growing under laboratory conditions if enough humidity is provided. Under most of the experimental conditions tested, seedling growth is slow and continuous, seedlings were observed for a period of six months, and their appearance varied notably at different nutrient medium (Fig. 5) Here we

demonstrated that ordinary constituents of basic media could actually inhibit seedling growth, as is the case of presence of iron or the lack of calcium. When seedlings have reach 3 mm in size they can continue their growth as can be seen on (Fig. 6) where with the supply of humidity with agar-gel is enough to observe their growth until the eight leaf appeared.

Germination and seedling stages are the most critical periods in the life cycle of desert plants. A study of environmental factors affecting these phases may throw some light on our understanding of the adaptive features of these species (Solbrig and Cantino, 1975 ; Villagra, 1997). We were unable to maintain seeds or seedlings in the field directly on their host, at the *Beaucarnea* trees. Similar results were found with *Tillandsia circinnata* by Benzing (1978). As in our study, water might play the principal role for their maintainance. As indicated by Gutterman (1997), in the arid environment it is difficult to have a combination of light and moist surface for periods long enough to allow seed germination. *T. dasyliriifolia* seeds proved to germinate well under light and with the presence of humidity at the laboratory. Under the natural desert conditions where water content decreases rapidly, the levels of germination in light could be even lower than those obtained in Petri dishes (Gutterman (1994; 1997).

Seed germination and seedling growth are restricted by environmental aspects like the presence of a substrate capable of maintaining humidity, type of light and temperature. At the Zapotitlán Valley, in *B. gracilis* trees, bark roughness is quite evident, besides the shadow proportioned by their leaves all year round that allowed bromeliads to established around the tree and on the *C. columna trajani* cacti tree where orientation seems to have an important environmental factor in their establishment and growth related with the pseudocephalio structure of the columnar cacti (García Suárez et al., 2003; Zavala-Hurtado and Díaz-Solis, 1995; Zavala-Hurtado et al., 1998; Valverde et al., 2007).

This *Tillandsia* species exhibit a successful clonal growth and sexual reproduction. It produces ramets that remain attached throughout the life of the mother plant, 1% of the population reproduces sexually, produces wind-dispersed seeds which might germinate within the spike, the growing seedlings reach upto 1.5 cm in height (probably 5 months old) however, their future survival is unknown. The reproductive status and recruitment in the species studied posses no direct, apparent threats to their survival. As in the case of many other species inhabiting arid and semiarid environments, seed germination and seedling establishment in *Tillandsia* are sporadic and can be considered as seldom-observed events (Barbour, 1969). Thus, their real survival is indirectly and strongly affected by their host survival. Both the columnar cacti (*Cephalocereus columna trajani* and *Neobuxbaumia tetetzo*) and *Beaucarnea gracilis* tree, which are endemic to the Tehuacán-Cuicatlán-Zapotitlán valley system and where this *Tillandsia* species grows (Cardel et al., 1996; García Suárez et al., 2003, Zavala-Hurtado and Díaz-Solis, 1995), are threatened by human activities and have a discontinual, isle-like distribution.

Acknowledgements

We specially thank Dr. María Flores and Dr. Ernesto Aguirre for the identification of the plant material and E. Martínez, M.E. García-Sahagún and I. Morgado for their help in the field. Research was partially supported by UAMI (143.03.24) to MDGS; Instituto de Ecología, A.C. (902-16) and CONACYT (1259) both to VRG.

References

- Barbour, M.G. 1969. Age and space distribution of the desert shrub *Larrea divaricata*. *Ecology* 50:679-685.
- Bennett, B.C. 1986. Patchiness, diversity and abundance relationships of vascular epiphytes. *Selbyana* 9:70-75.

- Bennett, B.C. 1987. Spatial distributions of *Catopsis* and *Guzmania* (Bromeliaceae) in southern Florida. Bulletin of the Torrey Botanical Club 114:265-271.
- Benzing, D.H. 1978. Germination and early establishment of *Tillandsia circinnata* Schlecht. (Bromeliaceae) on some of its hosts and other supports in Southern Florida. Selbyana 5(1):95-106.
- Benzing, D.H. 1981. Bark surfaces and the origin and maintenance of diversity among angiosperm epiphytes: a hypothesis. Selbyana 5:248-255.
- Benzing, D.H. 1990. Vascular epiphytes. General biology and related biota. Cambridge University Press. Cambridge, Mass. 324pp.
- Bewley, J.D. and M. Black. 1994. Seeds: physiology of development and germination. Second edition. Plenum Press: New York.
- Cardel, Y., V. Rico-Gray, J.G. García Franco, and L.B. Thien. 1996. Ecological status of *Beaucarnea gracilis* Lem. (Nolinaceae):an endemic species of the semiarid Tehuacán Valley, México. Conservation Biology 11: 367-374.
- Christensen, M.I., Meyer, S.E. and P.S. Allen. 1996. A hydrothermal time model of seed after-ripening in *Bromus tectorum* L. Seed Science Research 6: 155-163.
- Dávila, P., Villasenor, R. J.L. Medina, L.R., Ramirez, R. A., Salinas, T. A. Sanchez Ken, J. and P.Tenorio. 1993. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, Listados Florísticos de México X. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. México, 195 pp.
- Dávila, P., Medina, R., Ramirez, A., Salinas T. A., and P. Tenorio. 1995. Análisis de la Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, endemismo y diversidad. In: Conservación de plantas en peligro de extinción. Diferentes enfoques. E. Linares, P. Dávila, F. Chiang, R. Bye & T. Elias (Eds.). Instituto de Biología, UNAM. 33-41 pp.
- Evenary, M., Shanan, L. and N.Tadmor. 1982 The Negev. The challenge of a desert (2nd Ed.). Cambridge, Harvard University Press. 438 pp.
- Flores Cruz, M. 1998. Flora Genérica de la Familia Bromeliaceae en el Estado de México. Manual para la identificación de las especies de la familia Bromeliacea presentes en el estado de México. Facultad de Ciencias. Tesis de Maestría. UNAM. 186 pp.

- García, E. 1987. Modificaciones al sistema de clasificación numérica de Koeppen (para adaptarlo a las condiciones climáticas de la República Mexicana) 4th ed. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. México.
- García-Suárez, M.D., Rico-Gray, V., and H. Serrano. 2003. Distribution and Abundance of *Tillandsia* spp. (Bromeliaceae) in the Zapotitlán Valley, Puebla, México. *Plant Ecology* 166: 207-215.
- García-Suárez, M.D., Rico-Gray, V, Molina-Aceves, N. and H. Serrano. 2006. In vitro Germination and clonal propagation of the endemic *Tillandsia califanii* Rauh (Bromeliaceae) from Mexico. *Selbyana* 27:54-59.
- Gutterman, Y. 1993. Seed Germination in Desert Plants. Adaptation of desert organisms. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag. 253pp.
- Gutterman Y. 1994. Strategies of seed dispersal and germination in plants inhabiting deserts. *Botanical Review* 60: 373-425.
- Gutterman, Y. 1997. Effect of day length on flowering and seed morphology of *Spergularia diandra* occurring in the Negev Desert Israel. *Jnl. Arid Environ.* 36:611-622.
- Gutterman, Y., Shen Tov, S. and S. Gozlan. 1998. The effect of post-maturation temperatures and duration of seed germinability of *Plantago coronopus* occurring in natural populations in the Negev Desert highlands, Israel. *Journal of Arid Environments* 38:451-463.
- Hietz, P. and Hietz-Seifert, U. 1995a. Composition and ecology of vascular epiphyte communities along an altitudinal gradient in central Veracruz, Mexico. *Journal of Vegetation Science* 6:487-498.
- Hietz, P. and Hietz-Seifert, U. 1995b. Structure and ecology of epiphyte communities of a cloud forest in central Veracruz., Mexico. *Journal of Vegetation Science* 6:719 -728.
- Huidobro Salas, M.E. 1988. El género *Tillandsia* (Bromeliaceae) en el Estado de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Tesis de Licenciatura. ENEP Iztacala. UNAM. 103 pp.
- Isley, P.T. III. 1987. *Tillandsia*. The World's most unusual air plants. Botanical Press. Gardena, California. 210 pp.
- Jaramillo, L.V. and F. González-Medrano. 1983. Análisis de la vegetación arbórea de la provincia florística de Tehuacán-Cuicatlán. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 45: 49-64.

- Johansson, D. 1974. Ecology of vascular epiphytes in western African rain forest. *Acta Phytogeographica* (Uppsala) 59:1-129.
- Mayer, A.M. and A. Poljakoff-Mayber. 1975. *Germination of Seeds*. Pergamon Press. New York.
- Nadkarni, N.M. 2000. Colonization of stripped branch surfaces by epiphytes in a Lower Montane Cloud Forest. Monteverde, Costa Rica. *Biotropica* 32: 358-363.
- Nadkarni, N.M. and T.J. Matelson. 1989. Bird use of epiphyte resources in neotropical trees. *The Condor* 91:891-907.
- Neider, J., Engwald, S., Klawun, M. and W. Barthlott. 2000. Spatial distribution of vascular epiphytes (including hemiepiphtes) in a lowland Amazonian rain forest (Suronomi Crane Plot) of Southern Venezuela. *Biotropica* 32:385-396.
- Rzedowski, J. 1978. *La vegetación de México*. Limusa. México. 431 pp.
- SAS, 1987. *SAS guide for personal computers*. Version 6 SAS Institute Inc. Cary, North Carolina.
- Smith, L.B. and R.J. Downs. 1977. Tillandsioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica Monograph* 14. Part 2. Hafner Press, New York. 1492 pp.
- Solbrig, O.T. and P.D. Cantino. 1975. Reproductive adaptations in *Prosopis* (Leguminosae, Mimmosoideae). *Journal of the Arnold Arboretum* 56:185-210.
- Valverde, P.L., Vite, F., Pérez Hernández, M.A. and J.A. Zavala-Hurtado. 2007. Stem tilting pseudocephalium orientation, and ítem allometry in *Cephalocereus columna trajani* along a short latitudinal gradient. *Plant Ecology* 188:17-27.
- van der Pijl, L. 1982. *Principles of Dispersal in Higher Plants* (3rd Edn). Berlin, Heidelberg New York., Springer Verlag. 215 pp.
- Villagra, P.E. 1997. Germination of *Prosopis argentina* and *P. alpataco* seeds under saline conditions. *Journal of Arid Environments* 37:261-267.
- Villaseñor, J.L., Dávila, P. and F. Chiang. 1990. Fitogeografía del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 50: 135-149.
- Vite, F. Zavala-Hurtado, J.A., Armella, M.A. and M.D.García-Suárez. 1992. Regionalización y caracterización macroclimática del matorral xerófilo.

Superficies de respuesta a variables climáticas de once géneros de plantas características de este tipo de vegetación Carta escala:1:8,000,000 Section IV-8-3. Atlas Nacional de México 2: Tópicos fitogeográficos (provincias, matorral xerófilo, cactáceas). Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.

Zavala-Hurtado, J.A. 1982. Estudios ecológicos en el valle semiárido de Zapotitlán, Puebla. I Clasificación numérica de la vegetación basada en atributos binarios de presencia o ausencia de las especies. *Biotica* 7:99-120.

Zavala-Hurtado, J.A. and A. Díaz-Solis. 1995. Repair growth age and reproduction in the giant columnar cactus (*Cephalocereus columna-trajani* Karwinski ex. Pfeiffer) Schumann (Cactaceae). *J. Arid Environ* 31:21-31.

Zavala-Hurtado, J.A., Vite F. and E. Ezcurra. 1998. Stem tilting and pseudocephalium orientation in *Cephalocereus columna-trajani* (Cactaceae): a functional interpretation. *Ecology* 79:340-348.

Zimmerman, J. K. and I.C. Olmsted. 1992. Host tree utilization by vascular epiphytes in a seasonally inundated forest (Tintal) in Mexico. *Biotropica* 24: 405-407.

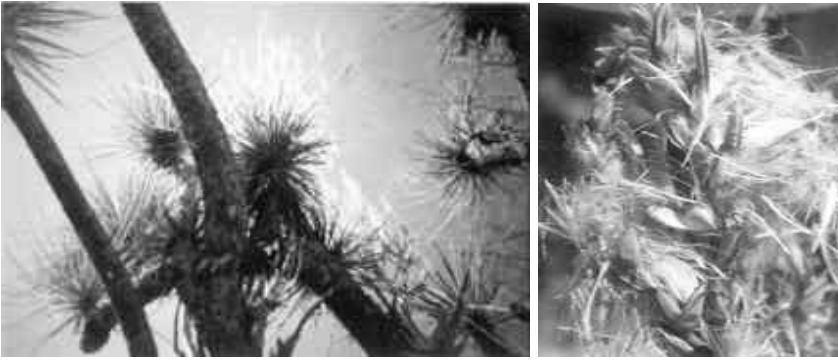


Figure 1a. Seeds of *T. dasyliirifolia* dispersed by wind during the month of February in the Zapotitlán area. 1b. Seeds in the infructescence of *T. dasyliirifolia*.

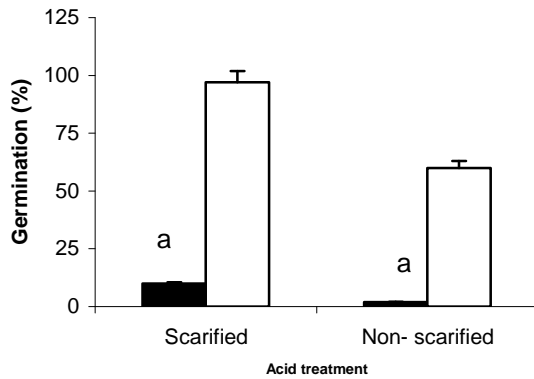


Figure 2. Germination capacity of *T. dasyliirifolia* seeds in response to light (open bars) or darkness (dark bars) conditions with seeds that were not scarified or scarified with sulphuric acid. Data are the mean and standard deviation of at least three independent experiments measured after 90 days. Letters above bars indicate no significant differences (t test, $p < 0.05$)

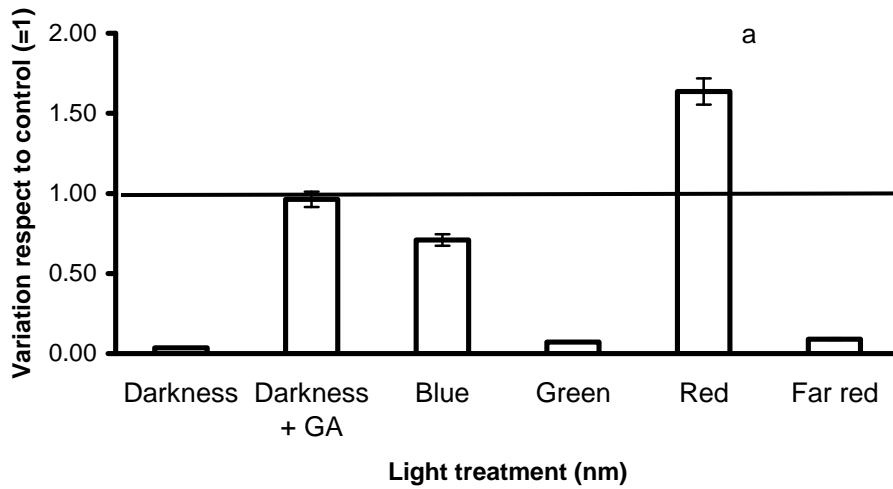
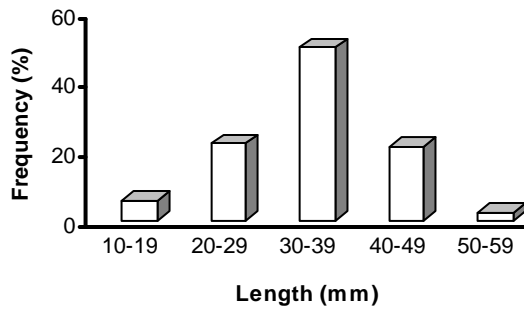


Figure 3. Germination response of *T. dasyliriifolia* seeds under different light conditions. Seeds were maintained under the indicated light condition for 150 days (see methods for details). Variations in germination percentages were compared to bright light group used as control (horizontal line at 1.00). Data are the mean and standard deviation of at least 3 independent experiments. Letter above bar indicates statistical differences above control (t Test, $p < 0.05$)



a



b

Figure 4. Seedlings of *T. dasyliriifolia* observed growing within the capsules of the infructescence (a) in the Zapotitlán area. All seedlings were counted, sized and classified into the five length categories shown (b).

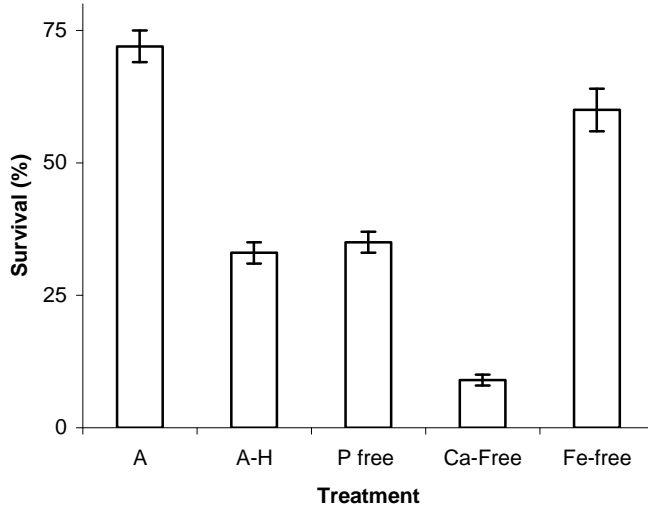


Figure 5. Percentage of *T. dasyliiriifolia* seedlings survival under different nutritional conditions. Seedlings were maintained for six months on agar (A), complete Hoagland solution (AH), or Hoagland media with no phosphorous (P-free), no calcium (Ca-free) or no iron (Fe-free). Data are the mean and standard deviation of three individual experiments

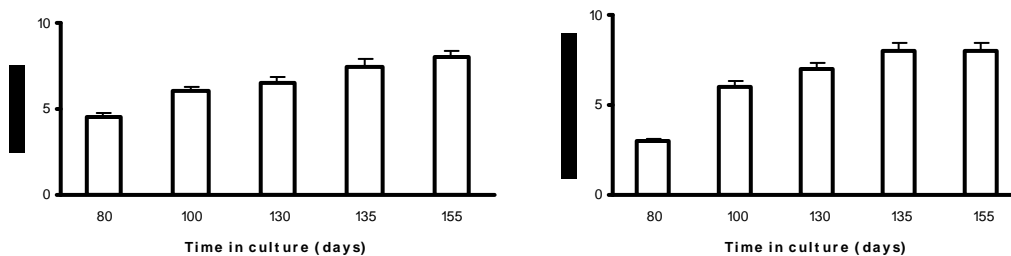


Figure 6. *T. dasyliiriifolia* seedlings growth and development under laboratory conditions. Seedlings were maintained under *in vitro* under agar-gel medium growing conditions up to 155 days, measured and leaf counted at the described times. Data are mean and standard deviation of three independent experiments.



In-Vitro Germination and Clonal Propagation of Endemic
TILLANDSIA CALIFANII RAUH. (BROMELIACEAE) FROM MEXICO.

M.D. GARCIA-SUAREZ^{1*}, V. RICO-GRAY², N. MOLINA-ACEVES¹, H. SERRANO³.

¹Departamento de Biología, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. Apartado Postal 55-535, Mexico City, DF, 09340, México. Email: loli@xanum.uam.mx

²Instituto de Ecología, A.C., Apartado Postal 63, Xalapa, 91000, VER, México.

³Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. Apartado Postal 55-535, México City, DF, 09340, México.

*Corresponding author

ABSTRACT

Tillandsia califanii is an endemic epiphytic bromeliad from the Tehuacán-Zapotitlán-Cuicatlán region, Puebla, México. Its basic reproductive patterns and distribution are poorly documented. The authors studied its distribution in two natural populations in the Zapotitlán Valley and performed a series of laboratory experiments to determine the basic culture conditions to determine a propagation strategy. In nature, *T. califanii* commonly propagates asexually producing up to four plantlets per mother plant. Most *T. califanii* individuals (90%) use *Beaucarnea gracilis* as phorophyte, and only 2% live on the columnar cacti *Cephalocereus columna-trajani*. Almost 50% of the *T. califanii* populations include individuals measuring 20–40 cm in height, considered as adult individuals in reproductive stage. Flowering occurs August–October. Inflorescence, formed by a spike, reaches 60 cm in height and produces an average of 20 capsules and up to 2000 seeds per spike. Seeds disperse late February–May. Viability tests show that most seeds contained a highly damaged embryo, which contributed to low survival. The low germination and survival observed in the field may be associated to the endemism of *T. califanii*, thus resulting in a genetically vulnerable species.

Key words: micropropagation, in-vitro seed germination, *Tillandsia*, epiphyte

Introduction

Tillandsia califanii Rauh (Bromeliaceae) is an endemic species of the *seTmiarid* Tehuacán-Zapotitlán-Cuicatlán region, Puebla, México. This epiphytic monocot mainly grows in the crowns of the succulent endemic tree *Beaucarnea gracilis* Lem. (Nolinaceae), which is the main component of the Izotal plant community. At the Cardonal plant community, smaller populations are established on the columnar cacti *Cephalocereus columna-trajani* (Karw.) K.Schum. and *Neobuxbaumia tetetzo* (JM.Coult.) Backeb. (Cactaceae). Thus their abundance and distribution depend on the spatial arrangement and distribution pattern of their hosts as well as germination within the sites on their hosts (Bennet 1986, 1987, Benzing 1990, García Suárez et al. 2003).

Anatomical features of *Tillandsia califanii* allow its growth and development in this arid environment as a drought-resistant tank bromeliad. Xerophytic adaptations include water-absorbing scaly trichomes on the epidermis of its leaves and sclerified roots that work mainly as holdfasts. Rauh described *T. califanii* in 1971 (Smith and Downs 1977), and Gardner (1984) demonstrated the viability of its pollen.

Tillandsia califanii is the only endemic bromeliad among the 600 endemic plant species growing within the Zapotitlán Valley (Dávila et al. 1995). The distribution and abundance of these endemics has been described by García Suárez et al. (2003).

The physiology of epiphyte seeds has not been studied intensively, except for some well known orchids and bromeliads (Benzing 1980). In-vitro germination can be used for rapid propagation, not only of epiphytic species with commercial value, but also as an alternative for the conservation of species that are part of the rich flora of Mexico. This method of micropropagation also might help in studies of ecological and physiological processes characteristic of such species.

The study was carried out in the Zapotitlán de las Salinas valley of Puebla, México, a mountainous area in the southeast portion of the state of Puebla (18°20'N, 97°28'W at 1400–1600 m), close to the northeastern limits of the state of Oaxaca. The climate is dry with a rainy season May–August (occasionally September). Total annual precipitation is ca. 350–400 mm, and mean annual temperature is ca. 20°C (Zavala-Hurtado 1982). Many parts of the following major vegetation associations or communities in the valley lack clear ecotones.

Thorny scrub. In the “matorral espinoso,” as thorny scrub also is known, can be found *Acacia cochliacantha* Humb. & Bonpl. ex Wild., *Cercidium praecox* (Ruiz & Pav. ex Hook) Harms, *Ipomoea pauciflora* M.Martens & Galeotti, *Mimosa luisiana* Brandegee, and *Prosopis laevigata* (Humb. & Bonpl. ex Wild.) M.C.Johnst.

Cardonal. In this plant association are *Cephalocereus columna-trajani*, *Neobuxbaumia tetetzo*, *Agave karwinskii* Zucc., *Mimosa luisana*, *Caesalpinia melanadenia* (Rose) Standl., *Calliandra capillata* Benth., *Gymnosperma glutinosum* (Spreng) Less., *Mammillaria haageana* Pfeiff, *M. sphacelata* Mart., and *M. carnea* Zucc. ex Pfeiff.

Izotal. Among the Izotal plants are *Yucca periculosa* Baker, *Agave marmorata* Roezl, *Beaucarnea gracilis* Lem, *Echinocactus platyacanthus* Link & Otto, *Castela tortuosa* Liebm., *Caesalpinia melanadenia*, and *Hechtia podantha* Mez.

Tropical dry forest. This plant community has *Bursera biflora* (Rose) Standl, *Ceiba parvifolia* Rose, *Senna holwayana* (Rose) H.S.Irwin & Barneby, and *Plumeria rubra* L.

The valley has been considered as a unique region in terms of its floristic richness, as one of the major centers of plant diversity in Mexico (IUCN 1990) with a 30% level of endemism, and as an important nuclei to be preserved (Dávila et al. 1993; Dávila et al. 1995; Jaramillo & González-Medrano 1983; Rzedowski 1978; Villaseñor et al. 1990, Vite et al. 1992). Several species of *Tillandsia* (Bromeliaceae) are found within the valley: *T. atroviridipetala* Matuda, *T. circinnatoides* Matuda, *T. makoyana* Baker, *T. pueblensis* L.B.Sm., *T. califanii*, *T.*

dasyliiriifolia Baker. and *T. recurvata* (L.) L. *Tillandsia califanii* Rauh is an endemic species of the Tehuacán-Cuicatlán-Zapotitlán valley system (Smith and Downs 1977).

MATERIAL AND METHODS

Field work was accomplished at the Valley of Zapotitlán within the Valley of Tehuacán, where we established four 50 m x 50 m quadrants (as demonstrated by Zavala- Hurtado 1982). Two quadrants were in the Cardonal plant community, and two in the Izotal. We marked the estimated plant size of the *Tillandsia califanii* plants, measuring length and diameter and plant orientation (using a pocket compass). The numbers of offshoots at the base of mother plants were recorded for such use as evaluating clonal propagation. Phenology of *T. califanii* was observed year round. Seeds were collected from closed and open capsules in the Izotal during February–May 1998 and 1999. Seeds were counted per capsule, and the infructescence spike was measured.

In-Situ Seed Germination

The few seedlings observed at 1–2.5 cm in height were often confused with plantlets coming from *Tillandsia* species. Larger plantlets 3–10 cm in height were not observed. A failure may occur in their later establishment; or as we observed, goat and squirrel depredation may prevent further growth.

Laboratory Work

Seeds were separated, washed thoroughly with tap water followed by two washes with distilled sterile water; immersed in sodium hypochlorite 5% and Tween 20 as surfactant for 5 min, and again washed with sterile distilled water. Seed germination was tested with scarified and non-scarified seeds. The scarification treatment consisted of immersing seeds in concentrated sulfuric acid, followed by

an immediate and thorough washing with distilled water; seeds were then sown in appropriate media.

Our first approach to identifying an appropriate germination medium was to compare two liquid or agar-gel solidified media at different strengths, using distilled water as control. The basic media were Murashige-Skoog (Murashige and Skoog 1962, Sigma Chemical Co. St. Louis, Missouri) and Knudson C media (Sigma Chemical Co.). Seeds were sown later on Murashige-Skoog (M-S) solid media with or without giberellic acid (0.5 g/l) plus 3% (w/v) sucrose in all media, which was then exposed to either light or dark conditions. Seeds were tested on M-S solid media supplemented or not with activated charcoal and activated charcoal plus coconut milk, plus 3% (w/v) sucrose in all media. Finally germination was tested on M-S solid media supplemented or not with sucrose (1.5% or 3%). For each treatment, 50 seeds were sown with five replicates. All seed treatments were placed in a chamber for 16/8 hours of a light/dark cycle, with 45 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ illumination and $29 \pm 1^\circ\text{C}$ temperature. Seed viability was tested using 2,3,5 triphenyl tetrazolium chloride 1% (TTC) supplemented with drops of Tween 20, a colorless solution used as an indicator of metabolic activity within the embryo (van Waes & Debergh 1986). Embryo viability was assessed by TTC and classified according to Kuo et al. (1996); only category I (fully viable seeds) were used.

RESULTS

Plant Population and Clonal Propagation

The population density of *Tillandsia califanii* changes depending on the phorophyte. At the Izotal, *T. califanii* is present on 90% of the *Beaucarnea gracilis* trees, which thus are considered the bromeliad's main phorophyte. At the Cardonal, only 2% of the columnar cacti *Cephalocereus columna-trajani* had *T. califanii*, yet it is the main host in this plant community. These populations of *T. califanii* are mainly ramets distributed in clumps. Each clump arises from vegetative

shoots of the mother plant, which produces up to four plants on the host side of its base. These offsets have a high probability of reaching adult phase. Most individuals within the 20–40 cm height range are practically in reproductive stage and account for nearly 50% of the population at the Izotal. Younger individuals produced by asexual reproduction are oriented mainly to the north (FIG. 1). At the Cardonal, the *T. califanii* population consists of only seven clumps in one quadrant and six in the other, with a preferred orientation to the NE, on the opposite side of the characteristic woolly cephalio of its phorophyte, *C. columna-trajani*.

At the Izotal community, 353 *Tillandsia califanii* individuals were found living on 24 *Beaucarnea gracilis* trees, giving a 14.7 ± 13.62 individuals occupancy for the phorophyte. At the Cardonal, this number was less than one individual 0.41 ± 0.58 per *Cephalocereus columna-trajani* cacti.

Seed Production

Tillandsia califanii flowers August–October. Inflorescences reach 20.38 ± 5.22 cm in height (60 cm total plant plus inflorescence); each produces 21 ± 6.9 capsules and up to 2000 seeds/spike. Seeds, compressed within the capsule, are liberated 14 months later, when the capsule opens. Ripening and seed dispersal occurs late February–May.

Viability tests showed that 90% of embryos had white patches, mainly in their apical region. This metabolic capacity enabled them to germinate (FIG. 2).

In-Vitro Germination

Seeds of *Tillandsia califanii* started germinating under in-vitro conditions, not before 15 days when the seeds increased in size, turned green, and remained rootless, as do other *Tillandsia* species (Benzing 1978b). At this stage, growth and development halted and rarely continued to form a seedling with leaves and roots. After 15 days, seeds germinated under distilled water with roots; 45 days later

68% of the seeds grew into swollen greenish seedlings. Sudden death, however, occurred after just 5 more days because of tissue oxidation.

Artificial Media and Sterile Techniques

In-vitro germination was obtained using either liquid or solid media. The former yielded a germination rate of 72% of planted seeds after 45 days (FIG. 3). Again, seedlings stopped growing and started a secondary latent phase, in which tissues oxidized, leading to whole tissue and seedling death. These seeds were photoblastic-indifferent (initiating germination in the presence or absence of light). Seedlings germinated in the dark were etiolated; but, when exposed to light, turned green. Bromeliads are able to produce chlorophyllic seedlings that synthesize sugars required for plantlet growth (Slack 1992). Giberellic acid neither increased seed germination nor diminished the apparent secondary latent state (FIG. 4).

The addition of coconut milk and activated charcoal with 3% sucrose to solid M-S media had a negative effect on germination capacity; the control behaved the same way with both additives (FIG. 5). The use of lower sugar concentrations increased seed germination to 79% (FIG. 6), but as in other media, seedling growth and development stopped. Scarified seeds did not germinate at all. Only 12 out of the 3000 seeds tested developed to full plantlets. Survival and vigor of this species thus are difficult to evaluate.

DISCUSSION

Similar to other bromeliads, propagation of *Tillandsia califanii* is based on clonal growth. This reproductive strategy may have genetic consequences for the population. Sexual reproduction in the field was difficult to evaluate, because of the morphological similarity between the plantlets of *T. califanii* and *T. dasyliiriifolia* that was a sympatric bromeliad sharing the same phorophytes (García Suárez et

al. 2003). Although nearly 50% of its individuals are in reproductive stage, *T. califanii* may exhibit a population decrease similar to that of *T. brachycaulus*, another monocarpic species, in which the population decreases every time an individual reproduces sexually (Mondragón et al. 1999). Low seed viability (no embryo or non-viable ones) of *T. califanii* is similar to other endemic plants in arid environments (Clark and Molina 2003). Furthermore, autogamy has not been observed, and outcrossing is probable among genetically closely related individuals (sibling crosses).

Sufficient surface for establishment is a critical factor for epiphytes, where competition may play a major role in constraining distribution (Bazzaz 1991). Competition, however, is not a factor where establishment is low and disturbance, high (Bennett 1987, Benzing 2000). *Tillandsia califanii* in the Izotal may solve this problem by using the rough-barked and multi-branched *Beaucarnea gracilis* trees, as principal phorophyte with a preferential orientation to the north (FIG. 1), rather than other phorophytes such as *Cephalocereus columna-trajani*, where *T. califanii* uses the few spaces available. Seedling establishment did occur, but low survival was not evaluated in the study. The accomplishment of the sexual reproductive phase suggests similarity to *T. circinnata* (Benzing 1978a, 1981).

Even with low germination and embryo viability, the population of *Tillandsia califanii*, has been sustained in the Valley. Crossing between close relatives may occur and needs to be further evaluated. Gardner (1984) demonstrated that 96% of the *T. califanii* pollen is viable, suggesting it is not of recent hybrid origin.

As can be seen in (FIG. 5), no difference exists between the media employed for inducing seed germination, with the exception of liquid Murashige-Skoog ½ strength where no germination was registered. As expected, the use of a sterile technique diminished seed loss by fungi and bacteria contamination. The artificial media tested proved that 1) availability of water is important for germination, 2) liquid media permit a good germination but also allow a later fast tissue oxidation,

3) use of 1.5% sucrose obtains more favorable results than higher concentrations, and 4) seeds appear to be photoblastic-indifferent. The media additives used did not enhance seed germination nor promote the growth and development of seedlings. One possible explanation for this low germination may be a low correlation between the metabolic state of the embryo and its developmental potential. Further studies are needed to explore this hypothesis.

At the Valley of Tehuacán, aridity plays a crucial role. Low precipitation is characteristic during the dry season, as is high solar irradiation year round. *In-situ* seed germination occurs. Scarce seedlings on the *Beaucarnea* trees had the capacity to reflect the sunrays with epidermic scales and developed the morphology of adult plants, including a tank impoundment that allowed water maintenance over long periods.

The genetic diversity of *Tillandsia califanii* populations needs to be evaluated, and research is needed to determine if asexual propagation has affected species diversity. The reproductive strategies of this species, sexual and asexual, have allowed its survival in a harsh environment. Even though seed germination and seedling establishment in *Tillandsia* are sporadic, seldom-observed events, the reproductive status and recruitment in the species studied poses no direct, apparent threat to its survival. Epiphyte survival, however, is indirectly and strongly affected by host survival; and both the columnar cacti (*Cephalocereus columna-trajani*) and *Beaucarnea gracilis* are slow-growing and low-recruitment species (Cardel et al. 1997).

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Eduardo Martínez and inhabitants of Zapotitlán, Puebla, for help in the field. Financial support was provided partially by Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa (143.03.24 to the corresponding author) and by Instituto de Ecología, A.C. (902-16) and CONACYT (1259-N9204) to the second author.

Special thanks go to Prof. Bradley C. Bennett for his comments that improved this paper and to an anonymous reviewer.

LITERATURE CITED

- Bazzaz, F.A. 1991. Habitat selection in plants. *Am. Nat.* 137: S116–130.
- Bennett, B.C. 1986. Patchiness, diversity, and abundance relationships of vascular epiphytes. *Selbyana* 9:70–75.
- Bennett, B.C. 1987. Spatial distribution of *Catopsis* and *Guzmania* (Bromeliaceae) in southern Florida. *Bull. Torr. Bot. Club* 114: 265–271.
- Benzing, D.H. 1978a. The life history profile of *Tillandsia circinnata* (Bromeliaceae) and the rarity of extreme epiphytism among angiosperms. *Selbyana* 2:325–337.
- Benzing, D.H. 1978b. Germination and early establishment of *Tillandsia circinnata* Schlecht. (Bromeliaceae) on some of its hosts and other supports in southern Florida. *Selbyana* 5:95–106.
- Benzing, D.H. 1980. *The Biology of Bromeliads*. Mad Rivers Press, Eureka Calif.
- Benzing, D.H. 1981. The population dynamics of *Tillandsia circinnata* (Bromeliaceae): cypress crown colonies in southern Florida. *Selbyana* 5:256–263.
- Benzing, D.H. 1990. *Vascular Epiphytes: General Biology and Related Biota*. Cambridge University Press, Cambridge Mass.
- Benzing, D.H. 2000. *Bromeliaceae: Profile of an Adaptive Radiation* (B. Bennett, G. Brown, M. Dimmitt, H. Luther, I. Ramírez, R. Terry, W. Till). Cambridge Cambridge, U.K.
- Benzing, D.H. and A. Renfrow. 1974. The mineral nutrition of Bromeliaceae. *Bot. Gaz.* 135:281–288.
- Cardel, Y., V. Rico-Gray, J.G. García-Franco, and L.B. Thien. 1997. Ecological status of *Beaucarnea gracilis*, an endemic species of the semiarid Tehuacán Valley, México. *Conserv. Biol.* 11:367–374.
- Clark-Tapia, R. and F. Molina-Freaner. 2003. The genetic structure of a columnar cactus with a disjunct distribution: *Stenocereus gummosus* in the Sonoran Desert. *Heredity* 90:443–450.

- Dávila, P., J.L.R. Villasenor, L.R. Medina, R.A. Ramirez, T.A. Salinas, J. Sanchez Ken, and P. Tenorio. 1993. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, Listados Florísticos de México X. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Dávila Aranda, P., R. Medina Lemos, A. Ramírez Roa, A. Salinas Tovar, and P. Tenorio Lezama. 1995. Análisis de la Flora del Valle de Tehuacán, Cuicatlán, Endemismo y Diversidad. Pp. 33–41 *in* E. Linares, P. Davila, F. Chiang, R. Bye, and T. Elías, eds. Conservación de Plantas en Peligro de Extinción. Diferentes Enfoques. Instituto de Biología, UNAM, México.
- Gardner, C.S. 1984. Natural hybridization in *Tillandsia* subgenus *Tillandsia*. *Selbyana* 7:380–393.
- García-Suárez, M.D., V. Rico-Gray, and H. Serrano. 2003. Distribution and abundance of *Tillandsia* spp. (Bromeliaceae) in the Zapotitlán Valley, Puebla, México. *Plant Ecol.* 166: 207-215.
- IUCN (International Union for the Conservation of Nature). 1990. Centers of Plant Diversity . An Introduction to the Project with Guidelines for Collaborators. Parchment. Ltd., Kew, UK. 31p.
- Jaramillo, L.V. and F. González-Medrano. 1983. Análisis de la vegetación arbórea de la provincia florística de Tehuacán-Cuicatlán. *Bol. Soc.Bot. Méx.* 45:49–64.
- Kuo, W.H., A.C. Yan, and N. Leist. 1996. Tetrazolium test for the seeds of *Salvia splendens* and *S. farinacea*. *Seed Sci & Technol.* 24:17–21.
- Mercier, H. and G. Kerbauy. 1994. *In vitro* culture of *Vriesca hieroglyphyca*, an endangered bromeliad from the Brazilian Atlantic Forest. *J. Bro. Soc.* 44: 120–124.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with *Tobacco* tissue culture. *Physiol. Plant.* 15:473–479.
- Mondragón, D., R. Durán, I. Ramírez, and I. Olmsted. 1999. Population dynamics of *Tillandsia brachycaulos* Schltdl. (Bromeliaceae) in Dzibilchaltun National Park, Yucatán. *Selbyana* 20: 250–255.
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Limusa, México.
- Slack, G. 1992. Growing *Tillandsia* seed using artificial media and sterile techniques. *J. Brom. Soc.* 42:155–159.
- Smith, L.B. and R.J. Downs. 1977. Tillandsioidea. *Flora Neotropica*. Monograph 14(2). Hafner Press, NewYork.

- Van Waes, J.M. and P.C. Debergh. 1986. Adaptation of the Tetrazolium Method for testing the seed viability and scanning electron microscopy study of some Western European orchids. *Physiol. Plant* 66:435–442.
- Villaseñor, J.L., P. Dávila, and F. Chiang. 1990. Fitogeografía del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 50:135–149.
- Vite, F., J.A. Zavala-Hurtado, M.A. Armella, and M.D. García-Suárez. 1992. Regionalización y caracterización macroclimática del matorral xerófilo. Section IV-8-3 in M.T. Gutiérrez de MacGregor, A. Cell-Hurtado, and A. García Fuentes, eds. *Atlas Nacional de México 2: Tópicos Fitogeográficos (Provincias, Matorral Xerófilo, Cactáceas)*. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. IV.8.3
- Zavala Hurtado, J.A. 1982. Estudios ecológicos en el valle semiárido de Zapotitlán, Puebla. I clasificación numérica de la vegetación basada en atributos binarios de presencia o ausencia de las especies. *Biotica* 7: 99–120.

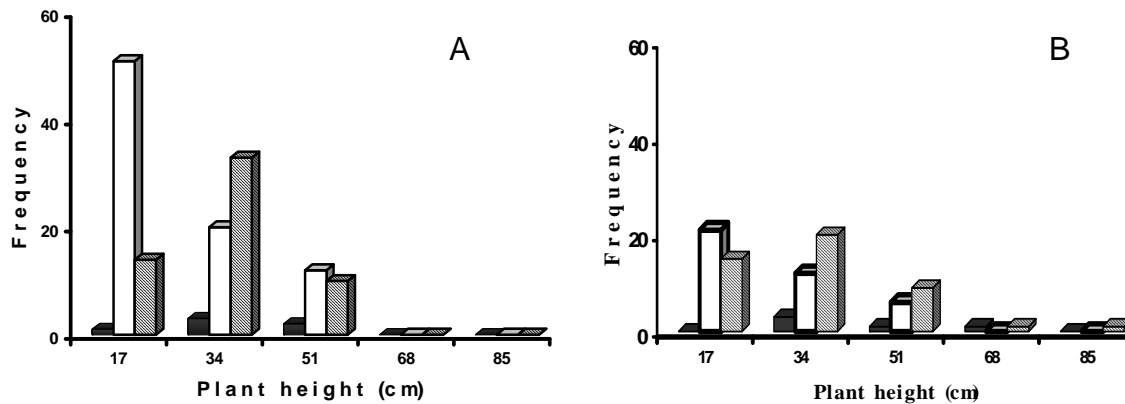
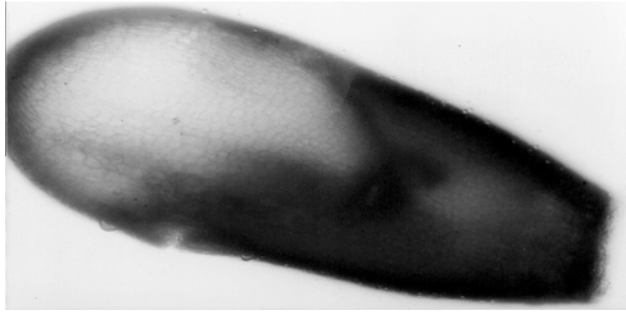
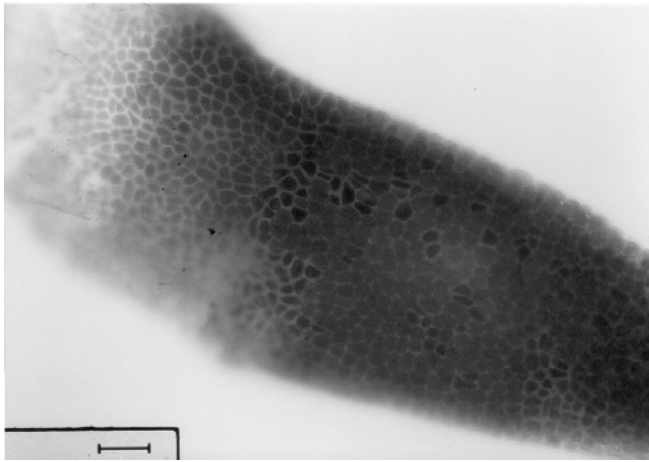


FIGURE 1. Age structure of *Tillandsia califanii* estimated by plant height. Plant orientations were determined with a pocket compass, and they were grouped in size classes: **A**. Plants facing to the north. **B**. Plants facing to the south. More individuals were observed on the northern side, and 50% of individuals were 20–40 cm in height. Solid bars indicate mother plants; open bars indicate plantlets growing at the base of mother plants; and dashed bars indicate individual plants.



A



B

FIGURE 2. Microscopic determination of seed viability. **A.** *Tillandsia califanii* embryo showing an apical with white patches (Light microscope 10X). **B.** Close detail of embryo cells of *Tillandsia califanii* (Light microscope 40X).

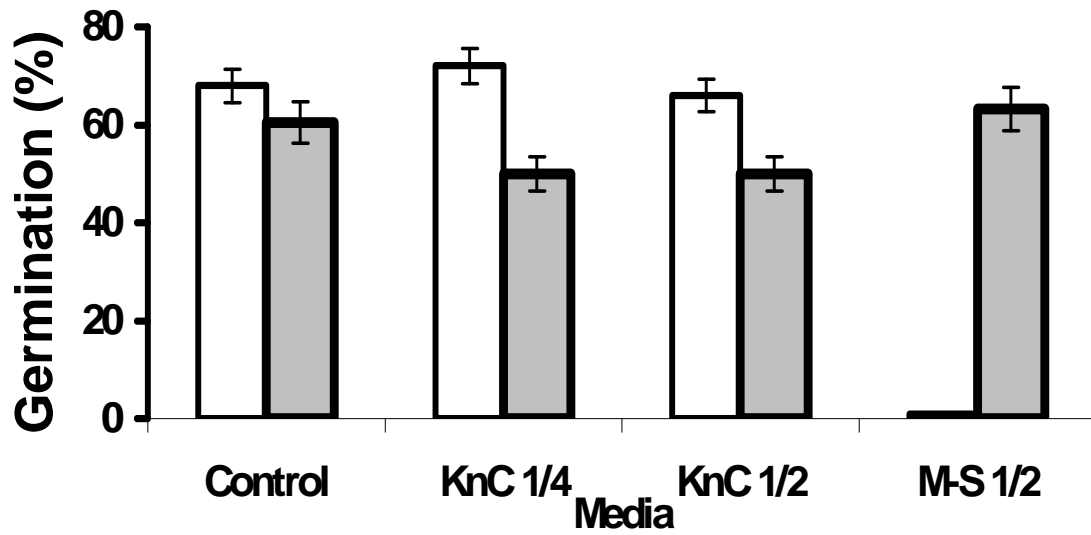


FIGURE 3. Effect of different media on the germinative capacity of *Tillandsia califanii* seeds. Seeds were sown in liquid (open bars) or solid (solid bars) conditions. The media culture used was Knudson C (KnC) at quarter or half strength and Murashige-Skoog (M-S) at half strength. Lines above bars indicate standard error.

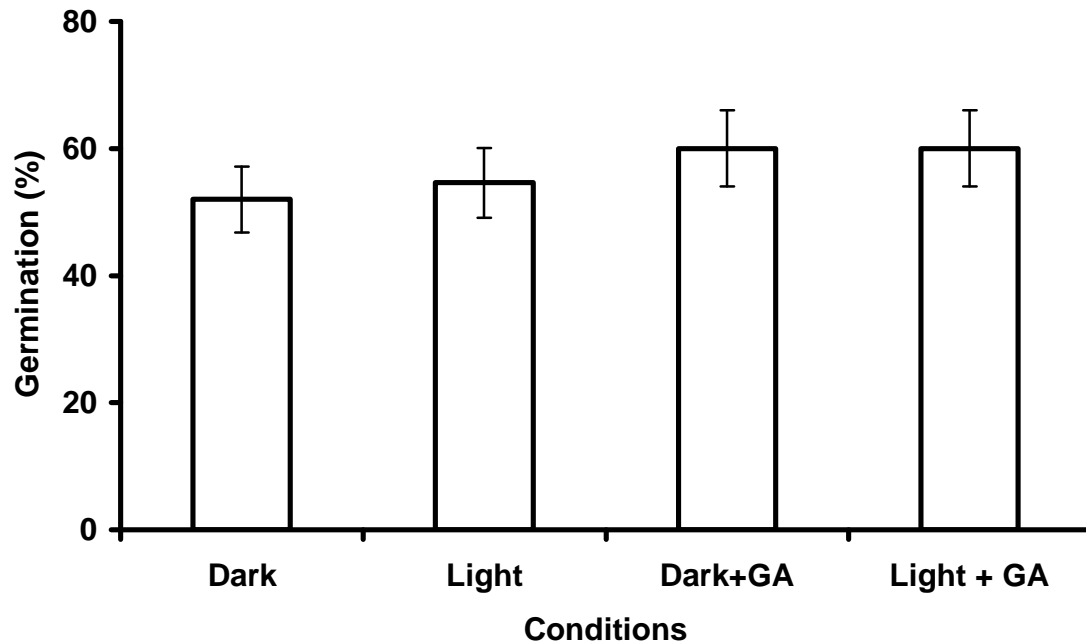


FIGURE 4. Effect of light and giberellic acid on the germinative capacity of *Tillandsia califanii* seeds. Seeds were sown on Murashige-Skoog solid media with or without giberellic acid (0.5 g/l). Some seeds were then exposed to light, and others to dark conditions. Lines above bars indicate standard error

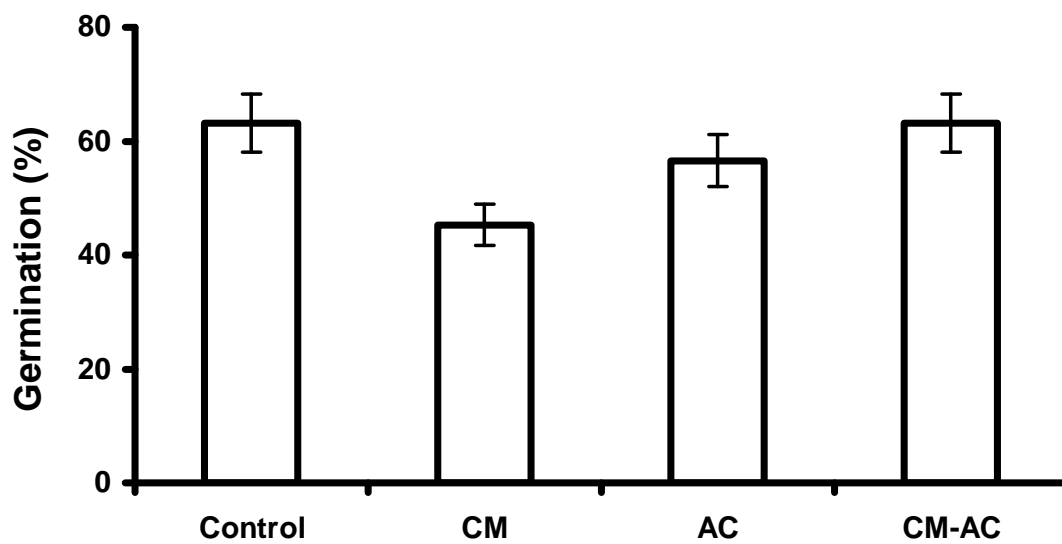


FIGURE 5. Effect of coconut milk (CM) and activated charcoal (AC) on the germinative capacity of *Tillandsia califanii* seeds. Seeds were sown on solid Murashige-Skoog media with CM, AC, or both added; they were maintained under standard conditions as described under Materials and Methods. Lines above bars indicate standard error

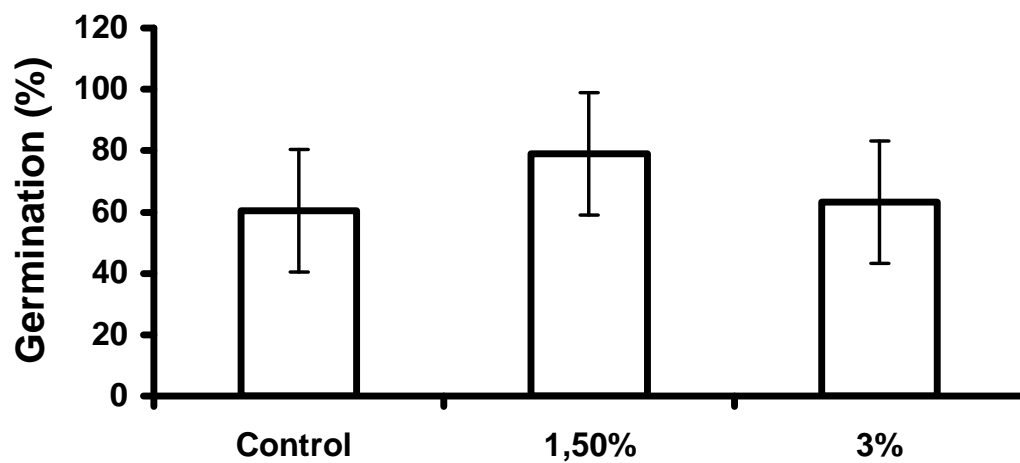


FIGURE 6. Effect of sucrose on the germinative capacity of *Tillandsia califanii* seeds. After being sown on solidified Murashige-Skoog medium with sucrose added at 1.5% (W/V) or 3% (W/V), seeds were incubated as described under Materials and Methods. Lines above bars indicate standard error.



CAPITULO IV

Morfología y anatomía de tres especies de *Tillandsia* (Bromeliaceae) en el valle de Zapotitlán, Puebla, México. (Manuscrito).

**Ecophysiology of *Tillandsia dasyliriifolia* Baker. (Bromeliaceae)
Photosynthesinthetic pattern. (Manuscrito).**



MORFOLOGÍA Y ANATOMÍA DE TRES ESPECIES DE *TILLANDSIA* (BROMELIACEAE) EN EL VALLE DE ZAPOTITLÁN, PUEBLA MEXICO.

M.D. GARCIA-SUAREZ^{1*} M.E. FRAILE ORTEGA¹, G. LAGUNA HERNANDEZ² M. COLLAZO ORTEGA³ Y H. SERRANO⁴.

Deptos. ¹Biología y ⁴Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco 186. México, 09340, D.F., México.

²Laboratorio de Estructura y Fisiología de Plantas ³Laboratorio de Desarrollo de Plantas, Facultad de Ciencias, Ciudad Universitaria. Universidad Nacional Autónoma de México. México, 04360, DF, México.

Resumen

El Valle de Zapotitlán, Puebla, es una zona de clima semiárido localizada hacia el Centro- Suroeste de México, su vegetación es diversa formando diferentes asociaciones vegetales, las plantas que las conforman se caracterizan por ser tolerantes a temperaturas por arriba de los 40°C. En esta región, coexisten tres especies de plantas epífitas de la subfamilia Tillandsioideae en el “Izotal” y el “Cardonal”, dos comunidades vegetales con características microambientales diferentes. En la primera su forofito es *Beaucarnea gracilis* Lem. y en la segunda los cactus columnares *Cephalocereus columna-trajani* (Kart) K Schum y *Neobuxbamia tetetso* (J M Coult) Backeb, así como también sus posibles híbridos. Se estudiaron las características morfo-anatómicas que permiten a *Tillandsia dasyliriifolia* Baker, *Tillandsia califanii* Rauh y *Tillandsia recurvata* (L.)L., adaptarse a un medio ambiente semiárido. En el campo se cuantificaron las especies de epífitas que se encontraron por forofito y se analizó la población global de las tres especies en dos cuadrantes en cada una de las comunidades vegetales. Cada planta se midió en altura y en base. Se colectaron individuos adultos de cada una de las tres especies de *Tillandsia* y en el laboratorio se fijaron hojas y raíz en FAA 10% y se hicieron los estudios en cortes semi-delgados sometidos a tinción diferencial. Los resultados muestran la distribución diferencial de las *Tillandsia* en las comunidades vegetales. La morfo-anatomía de las tres especies muestran características que les han permitido crecer y desarrollarse en condiciones de alta intensidad luminosa, tasa transpiratoria y temperatura altas. Particularmente la presencia de vacuolas que ocupan el lumen celular en el parénquima de las tres especies sugiere que pueden estar realizando fotosíntesis del Mecanismo del Ácido Crasuláceo (CAM) y la presencia de células de la vaina alrededor de los haces vasculares de *Tillandsia dasyliriifolia*, sugiere un mecanismo fotosintético C₄ que trabaja alternativamente para esta especie.

Abstract

The Zapotitlán Valley, Puebla is a semiarid region located in the Central southwest part of Mexico; the plants inhabiting this valley are diverse and conformed different plant community associations, here plants have developed several adaptations to this harsh environment, where temperatures are above 40°C. Within the valley, three species of the Tillandsioideae family coexist in two plant communities whose environments are slightly different., the “Izotal” and the “Cardonal”, in the first their phorophyte is *Beaucarnea gracilis* Lem and in the second plant community the columnar cacti *Cephalocereus columna-trajani* (Karw) K Schum, *Neobuxbaumia tetetzo* (J M Coult) Backeb and their putative hybrids. Here we also studied the morpho-anatomy that has allowed *Tillandsia dasyliiriifolia* Baker, *Tillandsia califanii* Rauh and *Tillandsia recurvata* (L) to inhabit in a semiarid land. Plant population study of the three epiphytes was analyzed in two quadrants in the two plant communities. Adult plants of the three *Tillandsia* epiphytes were taken out for anatomical studies. Leaves and roots were fixed in FAA 10% for transversal semi-thin cuts and a differential dye was used. All three species were capable to grow and coexist on the same phorophyte *B. gracilis*, at the Izotal plant community and at the Cardonal, on the *Cephalocereus columna trajai* columnar cacti as support. The morpho-anatomical studies show the characteristics that have allowed these species to grow and develop in a high light, temperature and transpiration environment. The anatomy of the three *Tillandsia* indicate that they may be using the CAM photosynthetic mechanism and the presence of a bundle sheath around the vascular tissue of *Tillandsia dasyliiriifolia* suggest it may be as well using a C₄ photosynthetic pathway as an alternative pathway.

Introducción

La familia Bromeliaceae está constituida por más de 2885 especies con 56 géneros, que se encuentran ampliamente distribuidas en el geotrópico. En el Continente Americano se localizan desde el sur de Chile hasta el sudeste de los Estados Unidos. De ellas, *Tillandsia* es el género más representativo (Medina et al., 1977; Smith y Downs, 1977; Benzing, 1980; Gilmartin, 1983; Luther, 2002). Su amplia distribución se debe a sus estructuras especializadas y adaptadas a hábitats extremos y tolerantes a restricciones o excesos físicos como luz, agua, nutrientes minerales o la combinación de algunos de éstos. Presentan hojas en roseta con capacidad de almacenamiento de agua y diferente grado de

suculencia. Las especies que son epífitas utilizan sus raíces como modo de sujetarse a sus forofitos y la toma de nutrientes lo realiza a través de sus hojas (Tomlinson, 1969; Benzing, 1980; Adams y Martin, 1986). De la subfamilia Tillandsioideae por lo menos 14 géneros y cerca de 50 especies han sido reportadas como plantas con fotosíntesis de metabolismo del ácido crasuláceo (CAM) (Crayn et al., 2004; Luttge, 2004). El género más estudiado es *Tillandsia* con 35 especies con este mecanismo (Kluge y Ting, 1978).

El Valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla es un área natural protegida, forma parte de la región fitogeográfica Mexicana xerófita (Rzedowski, 1978), y se encuentra dentro de la Reserva de la Biósfera desde 1998, cuya flora presenta afinidades Neotropicales una alta diversidad de especies (aprox. 3,000) de las cuales el 30% se estiman como endémicas (Villaseñor et al., 1990). Dentro del Valle existen diferentes tipos de vegetación (Zavala-Hurtado, 1982) y se pueden encontrar, varias especies de *Tillandsia* epífitas, las cuales presentan diferentes mecanismos adaptativos al medio árido (Meyran, 1973; Smith y Downs, 1977). Dentro de estas se encuentran: *T. atroviridipetala*, *T. circinatoides*, *T. makoyana*, *T. pueblensis*, *T. califanii*, *T. dasyliiriifolia* y *T. recurvata*. En el presente estudio se trabajaron con las siguientes epífitas: *Tillandsia dasyliiriifolia* Baker, es una especie que puede habitar tanto en ambientes méxicos como xéricos (Flores-Cruz, 1998), *Tillandsia califanii* Rauh, especie endémica del Valle de Tehuacán-Cuicatlán-Zapotitlán (Smith, 1965; Smith y Downs, 1977) y *Tillandsia recurvata* (L.) L., una especie cosmopolita (Smith y Downs, 1977). Estas epífitas crecen sobre otras plantas en el interior del dosel hasta la periferia de las copas de los árboles, por lo que las epífitas habitan una gran variedad de sitios donde las características ambientales pueden ser diversas y variadas desde el punto de vista de la ecología fisiológica (Zotz y Hietz, 2001).

Específicamente para estas tres especies, existen estudios enfocados principalmente a su taxonomía y distribución trabajos que han contribuido a su conocimiento (Smith y Downs, 1977) y en general para las *Tillandsia*. Los

estudios realizados sobre su ecofisiología se han basado principalmente en aspectos relacionados con la pérdida de agua y tolerancia a condiciones medioambientales extremas, mecanismos fotosintéticos, baja disponibilidad de nutrimentos e irradiación solar (Pittendrigh, 1948; Benzing, 1990; 2000; Craig, 1994; Zotz y Andrade, 1998; Zotz. y Thomas, 1999; Crayn et al., 2004; Luttge, 2004).

En el presente estudio se describen algunas estrategias adaptativas de *T. dasylyriifolia*, *T. califanii* y *T. recurvata*, para habitar en un ambiente semiárido, relacionadas a su nutrición, eficiencia de uso de agua y mecanismo fotosintético basándonos en el criterio anatómico y se señalan los tipos de vegetación que ocupan así como el forofito donde crecen.

Descripción del área de Estudio

El estudio se realizó en el Valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla. Área en la porción sudeste del estado de Puebla, cercano a los límites noroeste del estado de Oaxaca 18°20'N 97°28'W; elevación 1,400-1,600 m.s.n.m., (Zavala-Hurtado, 1982). Los tipos principales de asociación vegetal, con ecotonos no claros son: "Matorral espinoso" compuesto por *Acacia cochliata*, *Cercidium praecox*, *Ipomoea pauciflora*, *Mimosa luisana*, *Prosopis laevigata*. "Cardonal-tetechera" con *Cephalocereus columna trajani*, *Neobuxbaumia tetetzo*, *Agave karwinskii*, *Mimosa luisana*, *Caesalpinia melanadenia*, *Calliandra capillata*, *Gymnosperma glutinosa*, *Mamillaria hageana*, *Mammillaria sphacelata*, *Mammillaria carnea*. "Izotal" con *Yucca periculosa*, *Agave marmorata*, *Beaucarnea gracilis*, *Echinocactus platyacanthus*, *Castela tortuosa*, *Caesalpinia melanadenia*, *Hechtia podantha*, y bosque tropical caducifolio con *Bursera biflora*, *Ceiba parvifolia*, *Senna holwayana* y *Plumeria rubra*. El Valle ha sido considerado como una región única en términos de su riqueza florística con un nivel del 30% de endemismo y es un importante sitio que debe ser conservado (Rzedowski, 1978; Jaramillo y González, de Medrano 1983; Villaseñor et al., 1990; Vite et al., 1992; Dávila et al., 1993; García-Suárez et al., 2003).

En el Valle se tienen temperaturas superiores a los 40 °C al mediodía e inferiores a los 15 °C durante la noche. El clima es seco con estación de lluvias durante los meses de Junio a Agosto (en ocasiones Septiembre), por lo que la mayoría del tiempo los componentes de la comunidad están expuestos a una alta irradiación. La precipitación anual es de 300-350 mm, y la temperatura media anual es de 20° C (Zavala-Hurtado, 1982).

Metodología

Datos de campo

Forofitos y morfología

En el campo, se realizaron observaciones de las dos comunidades donde crecen estas especies: el Izotal dominado por *Beaucarnea gracilis* Lem, y en el Cardonal mixto o Cardonal-tetechera, dominado por las cactáceas columnares *Cephalocereus columna-trajani* (Karw) Schum, *Neobuxbaumia tetetzo* (J M Coult) Backeb y sus posibles híbridos. Se revisaron las poblaciones homogéneas de *Cephalocereus columna-trajani* y de *Neobuxbaumia tetetzo*. En cada comunidad se marcaron dos cuadrantes de 50 m x 50 m en los que se realizaron registros de la ubicación del (los) forofito(s) así como de las especies de bromeliáceas que coexisten en el mismo hospedero, para cada tipo de comunidad vegetal. Se contó el número de individuos de cada especie y se midieron en la parte más ancha de la planta (base de la roseta) así como su altura total (sin inflorescencia), denominándolas respectivamente base y altura.

Colecta del Material Biológico

Se colectaron plantas adultas de las especies *T. dasyliriifolia*, *T. califanii* y *T. recurvata* y se transportaron al laboratorio para su posterior procesamiento.

Estudio anatómico.

El material colectado fue fijado en FAA 10% y para el análisis anatómico de las tres especies de *Tillandsia*, con un microtomo rotatorio se realizaron cortes transversales a 7 micrómetros de hoja y de raíz, cortes longitudinales a la superficie de la epidermis y levantamiento de la misma. Las muestras se tiñeron con azul de toluidina, rojo neutro y Sudán III; se realizó la técnica tradicional de montaje en resina sintética (Johansen, 1940). El análisis de los cortes se realizó en microscopio compuesto Zeiss.

Resultados

Forofitos

En los cuadrantes marcados en el presente estudio no se encontraron especies de *Tillandsia* en las poblaciones homogéneas de *Cephalocereus columna-trajanii* ni de *Neobuxbamia tetetso*. Las especies de bromeliáceas epífitas que habitan principalmente en el Cardonal son *T. dasyliiriifolia* y *T. califanii*, y escasamente *T. recurvata*. En el Izotal *T. dasyliiriifolia*, *T. recurvata* y *T. califanii*, coexisten ocupando las ramas en el árbol. En el cardonal, *T. dasyliiriifolia* es la bromeliácea más abundante observándose más frecuentemente en *Cephalocereus columna-trajanii*. En el Izotal, todos los individuos de *B. gracilis* registrados tuvieron bromeliáceas epífitas (Tablas 1 y 2).

Morfología de *Tillandsia*

T. dasyliiriifolia y *T. califanii* poseen vainas expandidas con tricomas absorbentes y presentan una roseta en forma de tanque, en la Tabla 2 se muestran las mediciones de base y altura para estas especies. *T. recurvata* es una epífita atmosférica con tricomas absorbentes y cuya morfología semeja una pelota y carece de tanque que almacene agua y otros detritos.

Anatomía de las *Tillandsia*

Las especies estudiadas con hábito epífita, presentan características anatómicas muy semejantes entre sí, salvo algunas variantes que se señalan para cada especie. Las tres especies de *Tillandsia* presentan hojas equifaciadas (Fig. 1 a,c,e). En *T. dasyliiriifolia* la epidermis de ambas caras es uniestratificada, cutinizada en las paredes externas y laterales; los estomas son hundidos, formados por células hipodermales. El complejo estomático está constituido por dos células oclusivas, de menor tamaño que las acompañantes y de 4 a 6 células subsidiarias de mayor tamaño. Las células epidérmicas se encuentran en un nivel por encima de las estomáticas. Los derivados epidérmicos que se presentan son escamas peltadas (Fig. 2 a, c), que constan de un escudo de 4 células de igual tamaño y en cruz, engrosadas en sus paredes, rodeadas por dos capas de células, de las cuales la más externa es con mayor celularidad. Por fuera de éste escudo se forma un ala amplia, sus células son elongadas y con paredes delgadas que le permiten el movimiento. El pedicelo se encuentra constituido por 4 células de transferencia en hilera; con un par de células basales hundido en la epidermis. En *T. califanii*, la hoja equifaciada (Fig. 1c) está constituida por tejidos con una distribución y estructura semejante a la hoja de *T. dasyliiriifolia*, excepto por presentar por debajo de la epidermis un menor número de capas de fibras en el mesófilo. En *T. recurvata* la hoja equifaciada presenta una superficie mayor en el envés (cara abaxial) y una superficie restringida a una porción que equivale al haz (cara adaxial) debido a su forma cilíndrica (Fig. 1 e).

La epidermis es monoestratificada, cutinizada y escamosa (Fig. 2 c, d). Las escamas presentan las mismas características que en las otras especies. El mesófilo de *T. dasyliiriifolia*, está constituido por fibras que se localizan por debajo de la epidermis de ambas caras; por un clorénquima de células más o menos isodiamétricas, con gran cantidad de cloroplastos y cavidades intracelulares amplias debido a la presencia de vacuolas donde se almacena agua (figura 3a). Este clorénquima ocupa casi la totalidad del ancho de las hojas,

excepto en las porciones ocupadas por los haces vasculares y el aerénquima interfascicular (Fig. 1 a, c, e). Este último tejido en *T. dasyliriifolia* se caracteriza por presentar células en forma de estrella, con 4 a 5 brazos; la unión de estas células a través de cada brazo ocasiona la formación de amplios espacios intercelulares que facilitan la difusión de gas entre las células (Fig. 3 c). En las células del clorénquima se observaron maclas (conjunto de rafidios) como material ergástico (Fig. 3 b).

El sistema vascular está constituido por haces vasculares colaterales y cerrados. Cada haz está constituido por un paquete de floema localizado hacia la cara abaxial de la hoja y un paquete de xilema hacia la cara adaxial de la misma. Las fibras perivasculares se encuentran rodeando al haz. (Fig. 1 a, b) Por fuera de estas fibras en *T. dasyliriifolia* se encuentra una vaina de naturaleza parenquimática que constituye la vaina del haz (Fig. 1 b).

En *T. recurvata*, el mesófilo está constituido por un parénquima clorofílico, homogéneo, de células más o menos isodiamétricas con muchas de ellas conteniendo rafidios, que constituyen grandes maclas que llegan a ocupar la cavidad celular. El sistema vascular está formado por haces vasculares colaterales, cerrados y se presentan en menor número y son más pequeños que en las otras dos especies. Cada haz está formado por un paquete de floema orientado hacia el envés de la hoja y un paquete de xilema hacia el haz de la misma. Los haces se encuentran rodeados por fibras perivasculares (Fig. 1 e).

La raíz consta anatómicamente de una rizodermis pluriestratificada constituyendo un velamen. La corteza está constituida por una exodermis pluriestratificada con células de transferencia y células con paredes engrosadas; estas últimas se observaron en mayor proporción que las de transferencia. Por debajo de la exodermis hay un anillo masivo y continuó de fibras corticales como tejido de resistencia. A continuación se presenta parénquima interno con amplios espacios intercelulares a manera de un aerénquima. La última capa de la corteza es la

endodermis, caracterizada por sus células con bandas de Caspary en forma de 0 y por sus células de paso que no presentan ningún engrosamiento en sus paredes celulares (Fig. 4 a, b). El primer tejido del cilindro vascular es el periciclo, monoestratificado y localizado por debajo de la endodermis, para *T. califanii* y *T. dasyliiifolia* y multiestratificado para *T. recurvata*. El sistema vascular está constituido por brazos de xilema, con maduración de tipo exarco, que alternan con paquetes de floema. La médula en raíces maduras se presenta esclerificada. El tipo de estela es poliarca.

Discusión y Conclusiones

En el Izotal dominado por *B. gracilis*, las tres especies son capaces de crecer coexistiendo en el mismo tipo de forofito. En el Cardonal se localizan en el cactus columnar, *Cephalocereus columna-trajani* donde el crecimiento y desarrollo de las epífitas se restringe al espacio de la columna del cacto con cierta preferencia hacia donde se encuentra su pseudocefalio lanoso, orientación norte-noroeste del mismo (García Suárez et al., 2003; Valverde et al., 2007). En el árbol de *Beaucarnea gracilis* debido a su morfología con varias ramas y la presencia de hojas permite el establecimiento de las epífitas con una mayor abundancia y distribución debido a la disponibilidad de sitios apropiados para su crecimiento y desarrollo (García Suárez et al. 2003). Observaciones posteriores mostraron que al cambiar la latitud geográfica puede mostrar cambios como la presencia de epífitas en las cactáceas columnares que se encuentran ubicadas en las laderas sur de las montañas que forman el Valle de Zapotitlán.

Sólo algunas epífitas excepcionales tienen un forofito específico (Bennet, 1987, Benzing 2000), en la mayoría de los casos existen distintos soportes aunque no con la misma frecuencia, la distribución no es al azar sino en forma de parches de acuerdo con la distribución del forofito y se orientan en gradientes de luz y temperatura. Así la selección de forofitos para una especie varía según el tipo de ambiente donde se encuentre, la textura del árbol, la distribución de éste.

T. dasylyriifolia se distribuye en una amplia zona de la República Mexicana en ambientes áridos, semiáridos y húmedos, ha sido reportada como habitante de encinos en los bosques mesófilos del Estado de México (Huidobro, 1988; Flores, 1998) y en los tintales de Quintana Roo (Zimmerman y Olmsted, 1992). Las epífitas aunque puedan encontrarse en ambientes mésicos, se considera que siempre están sometidas a condiciones de estrés hídrico (Benzing, 1990). *T. califanii* como planta endémica del estado de Puebla es habitante de un ambiente xérico y restringida a ocupar *B. gracilis* y *C. columna trajani* como hospederos, *T. recurvata* abarca sitios más húmedos en su distribución y no presenta exclusividad de selección de un forofito en particular. En el Valle de Zapotitlán se presenta sobre otras especies arbóreas como *Cercidium praecox* donde crece sin competencia de otras epífitas siendo su población muy abundante (Montaña et al., 1997), así como también en árboles de *Prosopis laevigata* (obs. pers. D. García-Suárez) cuyas ramas son delgadas, sustrato que parece preferir esta especie de *Tillandsia* posiblemente debido a su morfología en forma de pelota, cubriendo por completo las ramas y quedando expuesta a la radiación solar. Según Pittendrigh (1948), *T. recurvata* es una especie considerada de demanda lumínica extrema, pueden tener una exposición al sol directa. Por poseer un denso estrato de tricomas foliares, es considerada como una planta atmosférica suculenta desde el punto de vista fisiológico. El mismo autor, considera en un tipo III a las bromeliáceas de tanque, que se caracterizan por tener hojas gruesas y anchas con tricomas esparcidos. *T. califanii* y *T. dasylyriifolia* pertenecen a este grupo, donde las epífitas toleran condiciones soleadas moderadas; y cuando habitan en sombra moderada las hojas que presentan son más delgadas (Huidobro, 1988).

Las hojas y raíz de estas especies muestran diferentes adaptaciones anatómicas que presentan para sobrevivir en este tipo de ambiente. En las hojas, la radiación solar es reflejada por los tricomas y escamas, disminuyendo la temperatura hacia el interior del mesófilo. La presencia de una epidermis cutinizada, estomas hundidos y el esclerénquima evitan la excesiva pérdida de agua por transpiración. Los estomas en contacto con el aerénquima interfascicular incrementan la

eficiencia del intercambio gaseoso. La presencia de fibras alrededor de los haces vasculares, contribuyen a disminuir la pérdida de agua. El mesófilo es considerado como suculento, debido a la presencia de amplias vacuolas que abarcan prácticamente el lumen celular y de los cloroplastos periféricos y como sugieren Kluge y Ting (1978), se consideran como un índice de capacidad del mecanismo fotosintético CAM (metabolismo del ácido crasuláceo). En *Tillandsia dasyliriifolia*, la presencia de las células de la vaina alrededor de los haces vasculares sugieren también la posibilidad de un mecanismo fotosintético C₄ que pudiese trabajar en paralelo según los requerimientos del uso de la economía del agua en esta planta. Esta vaina suberizada ha sido reportada para otros miembros de la familia Bromeliaceae por Tomilson (1969) y actualmente, no existen reportes de fotosíntesis C₄ en la familia. Más sin embargo, hay varios reportes sobre diferencias en la fijación del CO₂, ya sea por mecanismo CAM, C₃, o vía C₃ –CAM que se encuentran relacionadas con la adquisición de agua y de nutrimentos, así como con una relación referente a la morfología de las hojas: hojas gruesas cubiertas con tricomas exhiben fotosíntesis CAM mientras que hojas delgadas con escasos tricomas presentan fotosíntesis C₃. *Guzmania monostachia* bajo condiciones de estrés hídrico cambia de mecanismo C₃ a CAM (Pittendrigh, 1948; Kluge y Ting, 1978; Griffiths y Smith, 1983; Luttge et al., 1986; Martin 1994, Crayn et al., 2004).

La distribución de estomas, tricomas y tejido clorofílico en las hojas de las tres especies sugiere que la toma de agua y nutrición ocurre a través de su superficie foliar (Adams y Martin, 1986; Nyman et al., 1987; Reinert y Meirelles, 1993).

La raíz es un órgano que se encuentra reforzado tanto por una exodermis pluriestratificada así como por el anillo masivo de fibras corticales que contribuyen a evitar la pérdida de agua. El velamen cumple con la función de almacenamiento de agua y nutrimentos con lo que pueden tolerar el estrés hídrico causado por el ambiente xérico, en *Tillandsia dasylirrifolia* y *Tillandsia califanii*; no así para *Tillandsia recurvata* donde en esta epífita prácticamente no se observa su raíz y

su sostén se realiza por sus angostas hojas curvilíneas que abrazan preferentemente ramas delgadas; en *T. dasyliiriifolia* y *T. califanii*, las características que presentan su raíz son específicas para proporcionar el anclaje, la absorción y almacenamiento de agua y de nutrientes provenientes de la tierra que se acumula entre éstas y el forofito, como sucede en *Tillandsia deppeana* (Adams y Martin, 1986).

Estos resultados evidencian algunas de las adaptaciones morfológicas que presentan las tres especies de *Tillandsia* en el Izotal y Cardonal-tetechera en el Valle de Zapotitlán, Se hace necesario realizar más estudios que permitan correlacionar las adaptaciones que presentan con la optimización funcional fisiológica de éstas plantas así como también la relación que mantienen con sus hospederos.

Referencias

- Adams III, W.W. y C.E. Martin. 1986. Morphological changes accompanying the transition from juvenile (atmospheric) to adult (tank) forms in the Mexican epiphyte *Tillandsia deppeana* (Bromeliaceae). *Amer. J. Bot.* 73:1297-1214.
- Bennett, B.C. 1987. Spatial distribution of *Catopsis* and *Guzmania* (Bromeliaceae) in Southern Florida. *Bull. Torrey Bot. Club* 114:265-271.
- Benzing, D.H. 1980. *The Biology of Bromeliads*. Mad River Press, Eureka, California. 305 pp.
- Benzing, D.H. 1990. *Vascular epiphytes. General biology and related biota*. Cambridge University Press. Nueva York. 354 pp.
- Benzing, D.H. 2000. *Bromeliaceae: Profile of an adaptive radiation*. Cambridge: Cambridge Univ. Press.
- Crayn, D. M. Winter, K. y J.A.C. Smith. 2004. Multiple origins of crassulacean acid metabolism and the epiphytic habit in the Neotropical family Bromeliaceae. *Proceeding of the National Academy of Sciences* 101:3703-3708.
- Dávila, P., Villasenor, R.J.L., Medina, L.T., Ramírez, R. A., Salinas, T.A., Sánchez-Ken, J. y P.Tenorio. 1993. *Flora del valle de Tehuacan-Cuicatlán*.

Listados Florísticos de México X. Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México. México.

- Flores Cruz, M. 1998. "Flora Genérica de la Familia Bromeliaceae en el Estado de México. Manual para la identificación de las especies de la familia Bromeliaceae presentes en el estado". Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Ciencias. UNAM. 186 pp.
- García-Suárez, M.D., Rico-Gray, V., y H. Serrano. 2003. Distribution and Abundance of *Tillandsia* spp. (Bromeliaceae) in the Zapotitlán Valley, Puebla, México. *Plant Ecology* 166:207-215.
- Gilmartin, A. J. 1983. Evolution of mesic and xeric habitat in *Tillandsia* and *Vriesia* (Bromeliaceae). *Syst. Bot.* 8:233-242.
- Griffiths, H. y J.A.C. Smith. 1983. Photosynthetic pathways in the Bromeliaceae of Trinidad relations between life forms, habitat preference and the occurrence of CAM. *Oecología* 60:176-184.
- Huidobro Salas, M.E. 1988. El género *Tillandsia* (Bromeliaceae) en el Estado de México. Tesis de Licenciatura. ENEP. Iztacala, UNAM. Edo. de México. 103 pp.
- Jaramillo, L.V. y F. González-Medrano. 1983. Análisis de la vegetación arbórea de la provincia florística de Tehuacán-Cuicatlán. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 45:49-64.
- Johansen, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. MacGraw Hill. Nueva York.
- Kluge, M. y I.P. Ting. 1978. *Crassulacean acid metabolism*. Springer Verlag, Nueva York.
- Luther, H.E. 2002. An alphabetical list of Bromeliad binomials. The Bromeliad Society International. Sarasota, Fl.
- Luttge, U. 2004. Ecophysiology of Crassulacean Acid Metabolism (CAM). *Annals of Botany* 93:629-652.
- Luttge, U., K.-H. Stimmel, J.A.C. Smith y H.Griffiths. 1986. Comparative ecophysiology of CAM and C₃ bromeliads. II. Field measurements of gas exchange of CAM bromeliads in the humid tropics. *Pl. Cell Environm.* 9:377-383.
- Martin, C.E. 1994. Physiological Ecology of the Bromeliaceae. *The Botanical Review* 60:1-82.

- Medina, E., Delgado, M. Troughton, J.H. y J.D. Medina. 1977. Physiological ecology of CO₂ fixation in Bromeliaceae. *Flora* 166:137-152.
- Meyran, G. J. 1973. Guía botánica de cactáceas y otras suculentas del Valle de Tehuacán. Sociedad Mexicana de Cactología. A.C. México.
- Montaña, C., R. Dirzo, y A. Flores. 1997. Structural parasitism of an epiphytic bromeliad upon *Cercidium praecox* in an intertropical semiarid ecosystem. *Biotropica* 29:517-521.
- Nyman, L.P., Davis, J.P, O'Dell S.J., Arditti, J., Stephens G.C. y D.H. Benzing. 1987. Active uptake of amino acids by leaves of an epiphytic vascular plant, *Tillandsia pausifolia* (Bromeliaceae). *Plant Physiol.* 83:681-684.
- Pittendrigh, C. 1948. The Bromeliaceae anopheles malaria complex in Trinidad. *The Bromeliad Flora. Evolution* 2:58-89.
- Reinert F. y S.T. Meirelles. 1993. Water acquisition strategy shifts in the heterophyllous saxicolous bromeliad. *Vriesia geniculata* (Wawra) Wawra. *Selbyana* 14:80-88.
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Limusa, México.
- Smith, C.E. 1965. Flora of the Tehuacán Valley. *Feldiana Bot.* 31:101-143.
- Smith, L.B. y R.J. Downs. 1977. Tillandsioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica. Monograph* 14. Part 2. Hafner Press, Nueva York.
- Tomilson, P.R. 1969. Anatomy of the monocotyledons II Commelinales – Zingiberales. C.R. Metcalfe ed. Oxford University Press.
- Valverde, P.L, Vite, F., Pérez-Hernández, M.A. y J.A. Zavala-Hurtado. 2007. Stem tilting pseudcephalium orientation, and stem allometry in *Cephalocereus columna trajani* along a short latitudinal gradient. *Plant Ecology* 188: 17-27.
- Villaseñor, J. L., Dávila, P. y F. Chiang. 1990. Fitogeografía del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 50:135-149.
- Vite, F. Zavala-Hurtado, J.A., Armella, M.A. y M.D. García-Suárez. 1992. Regionalización y caracterización macroclimática del matorral xerófilo. Superficies de respuestas a variables climáticas de once géneros de plantas característicos de este tipo de vegetación. Section IV-8-3. Carta escala 1:8,000,000. En: Gutiérrez de MacGregor M.T., Cell-Hurtado A. y García Fuentes, A. (eds). *Atlas Nacional de México 2: Tópicos fitogeográficos (provincias, matorral xerófilo, cactáceas)*. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.

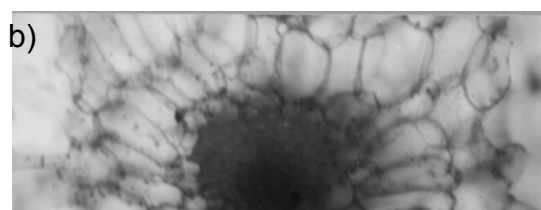
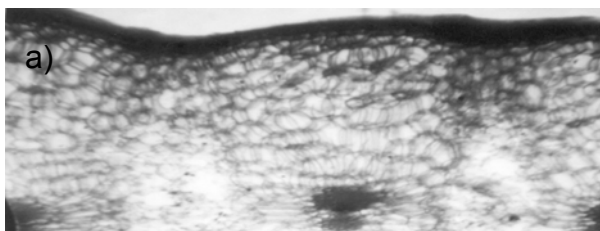
- Zavala Hurtado, J.A. 1982. Estudios ecológicos en el valle semiárido de Zapotitlán, Puebla. I Clasificación numérica de la vegetación basada en atributos binarios de presencia o ausencia de las especies. *Biotica* 7:99-120.
- Zimmerman, J. K. y I.C., Olmsted. 1992. Host tree utilization by vascular epiphytes in a seasonally inundated forest (Tintal) in Mexico. *Biotropica* 24: 405-407.
- Zotz, G. y J-L. Andrade. 1998. Water relations of two co-occurring epiphytic bromeliads. *Journal of plant Physiology* 152:545-554.
- Zotz, G. y V. Thomas. 1999. How much water is the tank? Model calculations for two epiphytic bromeliads. *Annals of Botany* 83: 183-192.
- Zotz, G. y P. Hietz. 2001. The physiological ecology of vascular epiphytes: current knowledge, open questions. *Journal of Experimental Botany* 52:2067-2078.

Tabla 1. Número de individuos de bromelias: *Tillandsia dasyliriifolia*, *T. califanii* y *T. recurvata* encontrados en dos hospederos: *Beaucarnea gracilis* en el Izotal y en el cacto columnar *Cephalocereus columna trajani* en el Cardonal.

Epífita/ Hospedero	<i>Beaucarnea gracilis</i>		<i>Cephalocereus columna trajani</i>	
	árboles	bromélias	árboles	bromélias
<i>Tillandsia dasyliriifolia</i>	14	304	3	16
<i>Tillandsia califanii</i>	14	201	3	3
<i>Tillandsia recurvata</i>	14	49	3	1

Tabla 2. Estructura poblacional con base en las dimensiones de individuos adultos, juveniles y plántulas de *Tillandsia dasyliriifolia* y *T. califani*. Todas las mediciones son el promedio y la desviación estándar N = .

	Altura (cm)	Base (cm)
<i>T. dasyliriifolia</i>		
Plántulas (<9.9 cm)	4.57 ± 2.25	1.53 ± 0.67
Juveniles (10-24.9 cm)	15.22 ± 4.15	4.19 ± 2.26
Adultos (>25 cm)	43.85 ± 14.27	11.46 ± 3.77
<i>T. califani</i>		
Plántulas (<9.9 cm)	4.44 ± 2,90	1.53 ± 0.91
Juveniles (10-24 cm)	16.07 ± 3.89	4.50 ± 1.25
Adultos (> 25 cm)	30.88 ± 5.39	7.37 ± 2.32



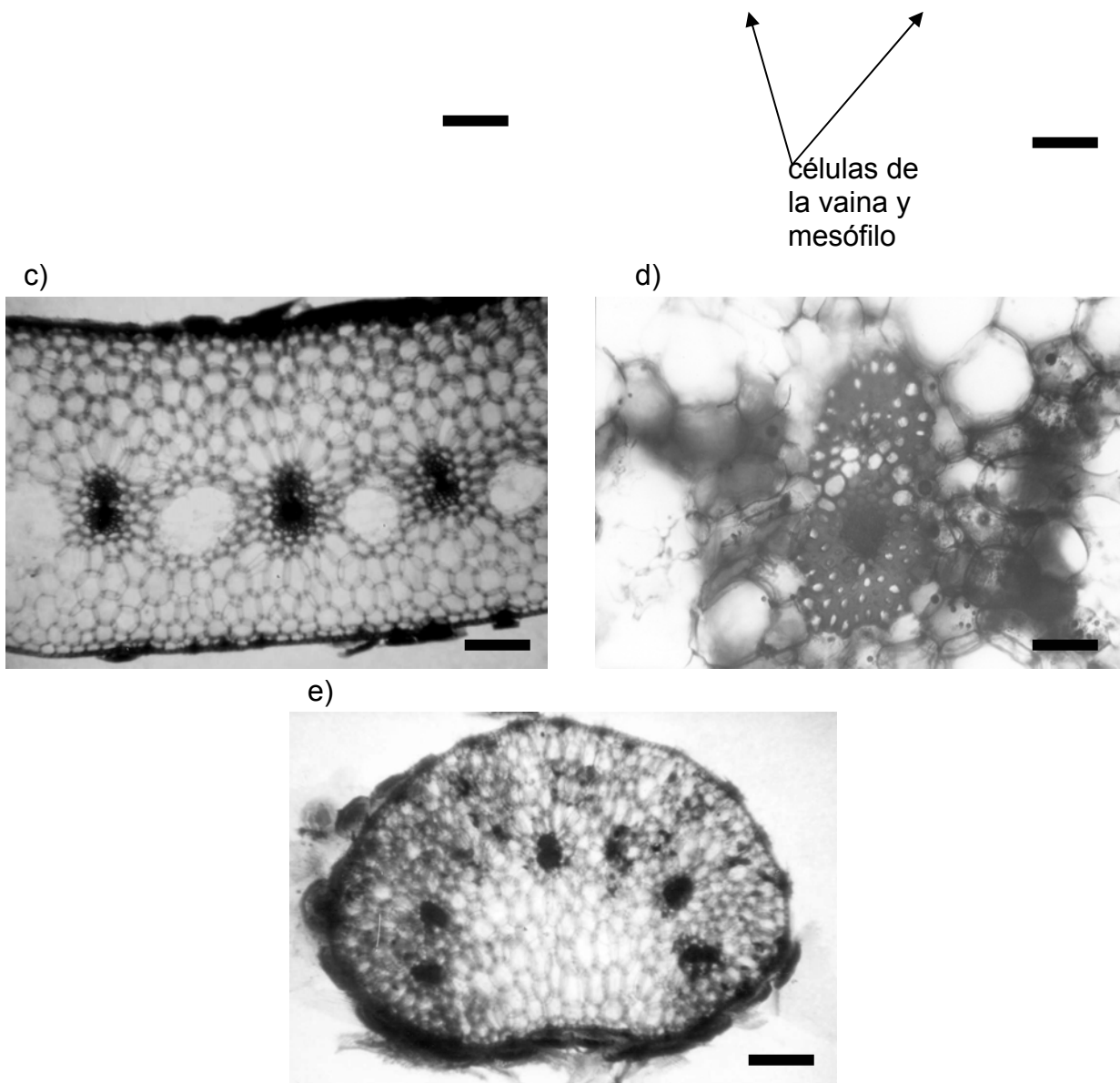


Figura 1. Anatomía de la hoja de *Tillandsia dasyliriifolia* (10X a, 16X b), de *T. califanii* (10X c, 16X d) y de *T. recurvata* (10X e). Corte transversal de hojas equifaciadas (a, c, e) muestra las características y arreglo de las células del mesófilo de las tres especies. (b, d) Acercamiento del haz vascular, muestra el xilema y floema rodeado por fibras perivasculares y en (b) células de la vaina que rodea al haz. La barra en las figuras b y d indica 50 μ , las restantes son de 150 μ .

a)

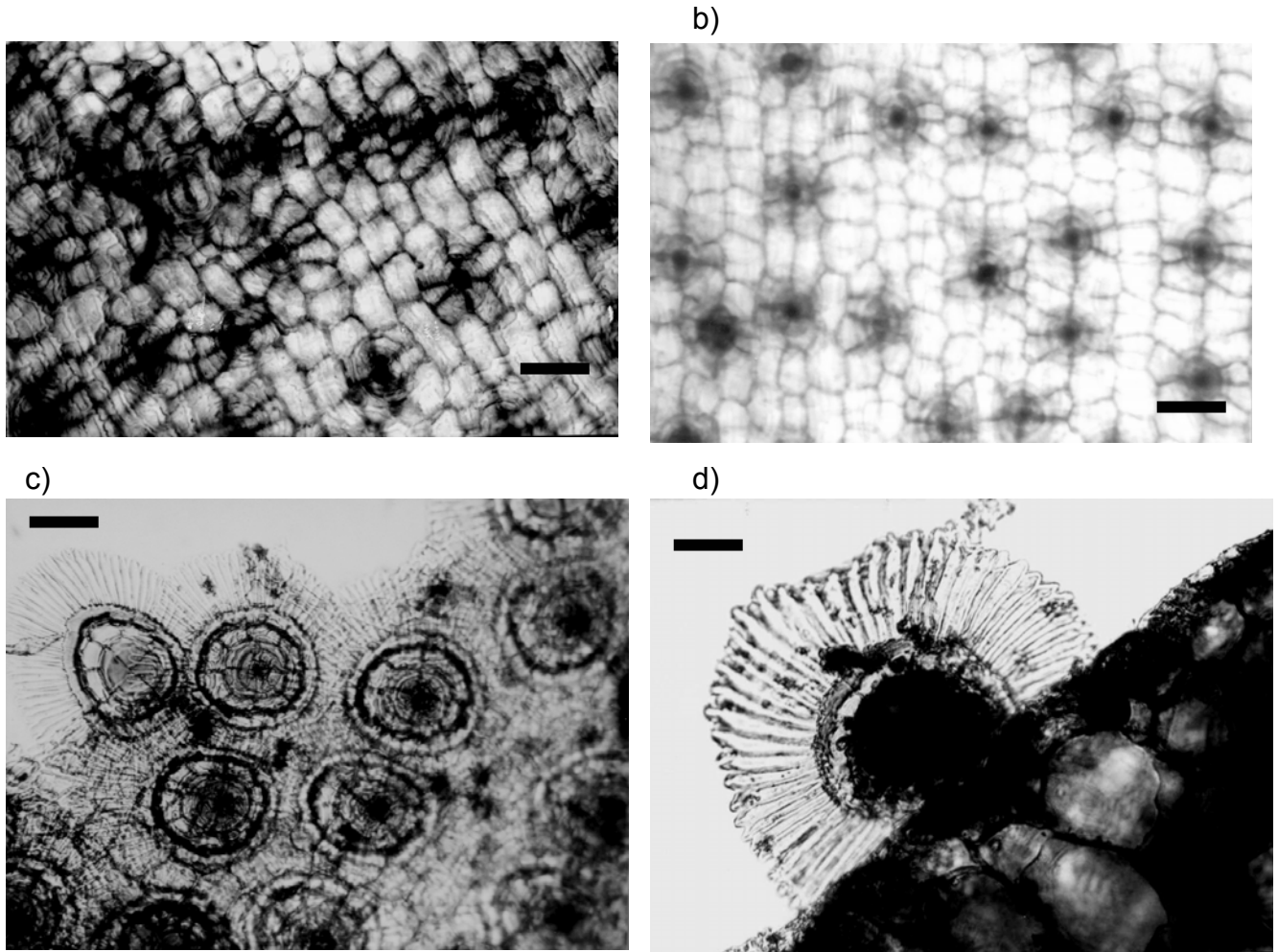


Figura 2. Anatomía de la hoja de *Tillandsia dasyliriifolia* 10X (a, c), y de *T. califanii* 10X y 16X (b, d). La epidermis (a, b) muestra corte longitudinal de tejido epidérmico y (c,d) la estructura de las escamas. La barra de las figuras a - c corresponden a 100 μ ; la de la figura d es de 150 μ .

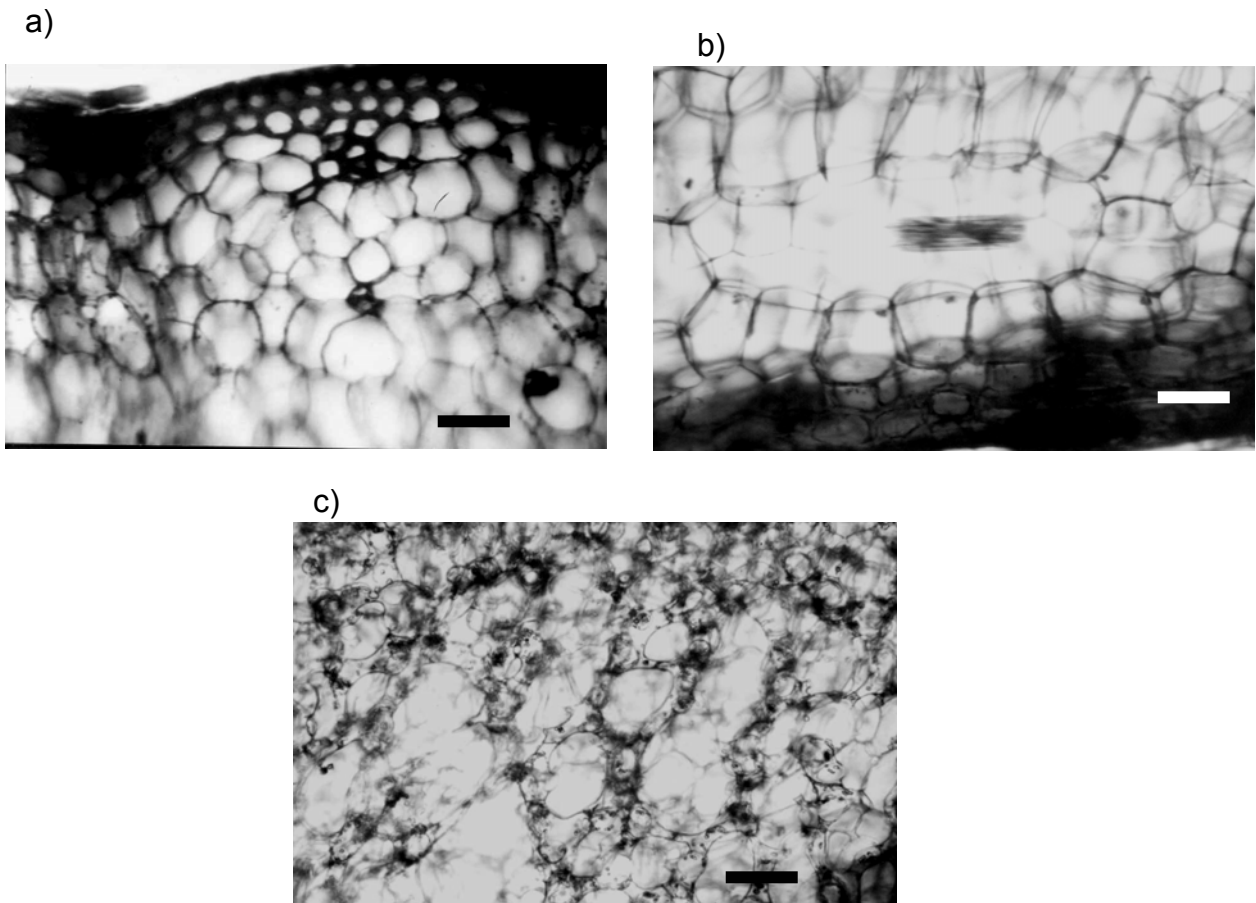


Figura 3. Especializaciones anatómicas de *Tillandsia dasylyriifolia* (a,b,c,) 10X
a) Corte transversal de hoja que muestra el clorenquima, esclerénquima y fibras por debajo de la epidermis b) rafidios en el mesófilo, c) aumento del tejido de aerénquima interfascicular en hoja. Las barras corresponden a 50 μ .

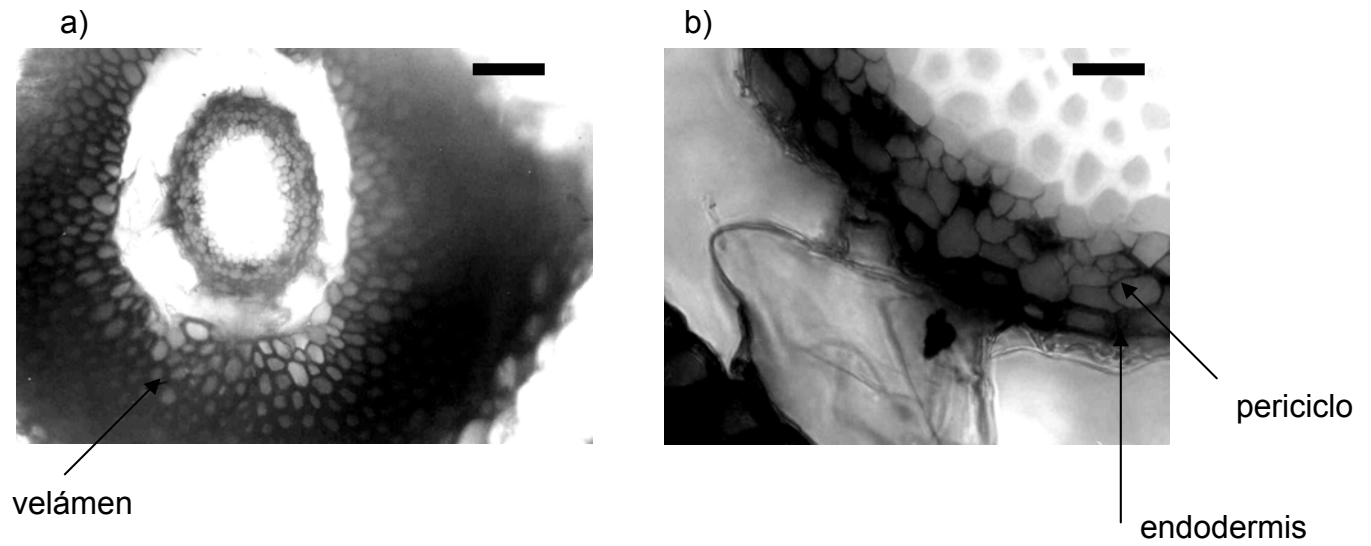


Figura 4. (a) Corte transversal de raíz de *Tillandsia dasyliiriifolia* donde se puede apreciarse las células del velámen 10X y (b) el cilindro central esclerificado, periciclo y endodermis. Las barras corresponden a 50 μ



ECOPHYSIOLOGY OF TILLANDSIA DASYLIRIIFOLIA BAKER.

(BROMELIACEAE). PHOTOSYNTHETIC PATTERN.

M.D. GARCIA-SUAREZ^{1*}, M. COLLAZO ORTEGA², G. LAGUNA-HERNANDEZ³, R. SAN MIGUEL⁴, A. LARQUE SAAVEDRA⁴, V. RICO-GRAY⁵, Y H. SERRANO⁶.

¹ Depto. Biología, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. Apartado Postal 55-535, Mexico City, DF, 09340,

² Laboratorio de Desarrollo de Plantas, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México

³ Laboratorio de Estructura y Fisiología de Plantas Facultad de Ciencias Universidad Nacional Autónoma de México.

⁴ Laboratorio de Fisiología Vegetal, Colegio de Postgraduados, Chapingo, Edo. de México.

⁵ Instituto de Ecología, A.C. Apartado Postal 63, Xalapa, 91000, Ver., México.

⁶ Departamento de Ciencias de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. Apartado Postal 55-535, México City, DF, 09340, México

Abstract

Tillandsia dasyliiriifolia Baker (Bromeliaceae), an epiphyte which present impounding tank, has been reported to inhabit arid and mesic environments. Within the Valley of Zapotitlán, Puebla, Mexico, where harsh conditions of an arid land prevail and are evident, it has adapted to inhabit. Some aspects of its ecophysiology considering environmental, phenological, physiological and morphological adaptations to water storage are shown. As a CAM plant it has mesophyll succulence of 17 mg.mL⁻¹ and as a C₄ plant, present bundle sheath cells around vascular tissue. Other adaptive morphology to arid environments are the presence of scales in epidermis, perivascular fibers for its water economy, sunken stomata and stomatal conductance related to aerenchyma tissue; besides all these characteristics, the proportion of diurnal, nocturnal and total CO₂ uptake contribute to its possible C₄-CAM type of photosynthetic pattern, characteristics that have allowed the maintenance of this epiphyte bromeliad in a semiarid land as is the Zapotitlán Valley, Puebla.

Introduction

Tillandsia dasyliiriifolia Baker (Bromeliaceae) is a monocarpic semelparous epiphyte that coexist with other two epiphytes *T. califanii* and *T. recurvata* in the Zapotitlán Valley in two different

xerophitic plant communities: the Izotal and the Cardonal. It is widely distributed throughout Mexico, and adapted to different environments e.g. tropical scrubs, thorn scrub and cloud forest (García Suárez et al., 2003).

Epiphytes are generally associated to mesic environments where they profusely grow, creating microclimates not considered as stressful for them, yet, they have to suffer drought and high light incidence, being water availability probably the most important environmental factor limiting their growth and survival (Benzing, 1990).

In the desert, plants are exposed to drought, high irradiance, hot air, and water stress. Adaptations of desert plants have enabled them to successfully survive in such a harsh environment (Crawford, 1989). Many succulent plants like cacti and agave inhabiting this habitat are examples where phenological, morphological and physiological adaptations are relevant (Elheringer, 1985; Nobel, 1984: 1988; Nobel and Barrera, 2003). Two different strategies have been adopted by epiphytes: one is morphological forming water storage organs, like impounding tanks, and the other is physiological in such a way that some species can be considered as atmospheric plants which lack such impoundments; they both grow on the bark of host trees, and have to rely entirely on the stored water in their tissues (Benzing 1990; 2000). The adaptive growth, phenological rhythms and reproductive development, related with its temporal variations have been previously described for *Tillandsia dasyliriifolia* (García Suárez et al., 2003).

Succulent plants exhibit different CO₂ fixation mechanisms, including C₃, C₄ and CAM pathways (Sayed, 1998). Although high water use efficiency is related with both C₄ and CAM, the first is characterized by midday stomatal closure and diurnal CO₂ uptake whereas the second show nocturnal CO₂ uptake (Szarek and Ting, 1975; Ting, 1985).

Physiologically, CAM plants exhibit a temporal separation from C₃ and C₄ plants. CO₂ fixation is used for malic acid synthesis by CAM plants during its nocturnal

stomata opening and its release in decarboxylation during the day when stomata are closed. C_4 photosynthetic mechanism separates this by using two different kinds of cells. Malic acid is produced within the mesophyll cells, transported to bundle sheath cells where it is decarboxylated and released CO_2 is then re-fixed via C_3 pathway (Kluge and Ting, 1978; Osmond, 1978). As stomata close, internal CO_2 pressure must be maintained (Burcschka et al., 1985).

In the Neotropical family Bromeliaceae, photosynthetic capacities have been found to be variable showing C_3 , C_3 -CAM and CAM CO_2 fixation strategies (Medina et al., 1977; Martin and Siedow, 1981; Griffiths and Smith, 1983; Adams and Martin, 1986; Griffiths et al., 1986; Smith et al., 1986; Martin and Adams, 1987; Lüttge, 1987; Martin and Schmitt, 1989; Martin, 1994; Maxwell et al., 1994; Nowak and Martin, 1997; Zotz and Andrade, 1998; Zotz and Hietz, 2001; Lüttge, 2004). Particularly CAM within the Bromeliaceae has been considered to have a multiple origin and as an ecophysiological modification of photosynthetic carbon acquisition which has been reviewed extensively before (Crayn et al., 2004; Lüttge, 2004).

Here we examined some aspects of the photosynthetic ecophysiology of *Tillandsia dasyliiriifolia* considering its adaptive morphology to a semiarid environment with an evaluation of its relative water content, grade of succulence, stomatal conductance, proportion of diurnal, nocturnal and total CO_2 uptake and tritrable acidity; that have allowed its maintenance in the canopy of trees in the semiarid environment at the Valley of Zapotitlán, Puebla.

Material and methods

Study area

The research was carried out in the Zapotitlán Valley, Puebla, México, a semi-arid ecosystem. Rainfall in the valley occurs during the months of June-September. Mean annual temperature ranges between 18 and 22 °C; maximal/minimal

temperatures for spring months (March-April) are 43/14 °C and 35/10 °C for summer (June-July) months, respectively. Total amount of annual rainfall is 380 mm. (García, 1987; Arizaga and Ecurra, 2002). The *Tillandsia dasylirifolia* plants were studied in the Izotal plant community, having *Beaucarnea gracilis* as host trees as described elsewhere (García Suárez et al., 2003).

Anatomical observations

Adult plants in vegetative fase were collected *in situ* and taken back to laboratory to make anatomical observations. Stereoscopic and light microscopes were used for general anatomical description. Leaves were cut transversally (7 μ) and stained with 0.1% (w/v) toluidine blue solution. Slides of fresh material were examined with a Zeiss Axiomat microscope and photographed with a Fujichrome color film ASA100 with a Cannon camera.

Relative water content (RWC)

RWC was determined according to Barcikowski and Nobel (1984). Since this method requires the determination of turgid, fresh and dry weights, adult plants in vegetative fase were collected in the field and taken to the laboratory. Turgid weight was determined upon re-hydration of leaves by placing them for six days in 0.25X strength Hoagland's solution, to saturate water content. Dry weight was measured after oven drying at 60°C until no further weight changes occurred. Fresh weight of leaves was obtained as the quotient of dry weight divided by turgid weight minus dry weight.

Quantitative Index of succulence (S) was estimated with the surface expansion method as suggested by Kluge and Ting (1978) and the Delf index (1912), described in Kluge and Ting (1978). The first is a correlation of leaf surface and fresh weight assuming a 1 g = 1 mL equivalence whereas the second is the quotient of saturating water content related to the two dimensional surface (Larcher, 1973).

A specific mesophyll succulence index (S_m) was determined according to Kluge and Ting (1978) and Osmond et al., (1989). Mesophyll succulence index was determined after leaf water content and leaf chlorophyll content was obtained. Leaf water content was defined after leaf succulence where the leaf fresh over dry weight ratio were measured. For chlorophyll determination, chlorophylls were extracted from 1 g fresh clean leaves immersed in cold 5ml N,N dimethyl-formamide (DMF Sigma Chemical, St. Louis, Mo, spectrophotometrical grade) for 3 days in the darkness. Absorbances at 664.5 and 647 nm was determined in a Perkin Elmer Lambda2 spectrophotometer (Perkin Elmer, Piscataway, NJ). Chlorophyll type and content was determined after Inskeep and Bloom (1985) formulas. For dry matter allocated to leaves determination, plants were oven dried (60°C) and dry weight of leaves was then expressed as percentage of the total dry weight of each plant (Radogluos and Jarvis, 1992).

Gas exchange (Net CO₂ uptake and transpiration rate) was determined in April (spring) and June (summer) with an IRGA analyzer LCA 3 ADC portable infrared analyser open gas exchange system (Li-Cor, Lincon, Ne). Adult plants of *T. dasyliiriifolia* were chosen randomly at the Izotal plant community growing in the *Beaucarnea gracilis* trees. Measurements were made with clapped leaves using abaxial surface area where more stomata are present. Gas exchange was measured every 4 h for a 24 h period and the same measurements were repeated for three plants. On each plant four leaves were selected, and gas exchange monitored on these leaves. Maximum and minimum air temperatures were recorded.

For malic acid determination of titrable acidity, 5 gr samples of entire leaves were taken every 4 h in a 24 h period. The samples were frozen and stored until processed. Leaves were thawed and macerated directly on a cold mortar, cell suspension was cleared from cells and debris by mesh-clothing filtration, and extracts were titrated to pH 7.0 with 0.01 N NaOH. (Craig et al., 1981).

Results

Epidermal peels showed rectangular cells with sinuous walls arranged in longitudinal files. An hypodermis is present just below the epidermis. Sunken stomata and stomatal chambers are present, along the longitudinal files, as well as the presence of peltate scales. Below hypodermis on the adaxial side there is chlorenchyma and below water storage tissue near abaxial side. Aerenchyma tissue is present in between vascular tissue (Fig.1), connected to stomata chambers. Vascular bundles are equidistant surrounded by vascular fibers and particularly of *Tillandsia dasyliiriifolia* surrounded as well by a bundle sheath consisting of gross parenchyma cells with thin walls and chloroplasts (Fig. 2). These features of *T. dasyliiriifolia* are similar to those described for the whole Bromeliaceae family (Tomilson, 1969; Smith and Downs, 1977; Reinert and Meirelles 1993).

The relative water content (RWC) was $232 \pm 0.2 \text{ mg g}^{-1}$. This data correlate to the anatomical finding that leaf consist principally of chlorenchymatous tissue specialized as a water storage tissue; however, it is possible that air in the storage tissue might also be present (Table 1).

Surface expansion was $7 \pm 0.1 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$ tissue and succulence degree of only 0.6 g dm^{-2} . The mesophyll succulence of *T. dasyliiriifolia*, was $S_m = 1.6$; an index for succulence at cellular level typical for CAM plants (Kluge, and Ting, 1978). Chlorophyll content was close to $17 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ dry weight (Table 1).

T. dasyliiriifolia CO_2 uptake was mainly during the night especially in spring time when temperature is higher than in summer time, a phenomenon found in most CAM plants, but also during light periods (Fig. 3). Stomata are closed at midday hours as for other C_4 photosynthetic plants although some C_3 species also show

this stomatal behaviour, stomata open at day time during morning, at eight o'clock, avoiding water loss the rest of the day (Fig. 4).

As can be seen in Fig. 5, titrable acidity data nicely correlate with the activity of C₄ enzymes and dark CO₂ fixation. Samples of entire leaves showed differences in malic acid content near to 25000meq/g during spring (warmer period) whereas this amount is only 1200 meq/g in summer. Environmental and leaf temperatures from *T. dasyliriifolia* evaluated by IRGA during the spring, show that the leaf maintains a lower temperature specially at midday (Fig.6).

Discussion

Plant survival in harsh arid environments requires the development of both anatomical and physiological adaptations. For most CAM plants a predominantly physiological adaptation has been taken as the presence of succulent mesophyll with large vacuoles (Kluge and Ting, 1978; Zotz and Hietz, 2001), whereas a two compartment CO₂ fixation strategy has been adopted by C₄ plants (Hatch and Slack, 1970). In the case of *T. dasyliriifolia*, contradictory anatomical characteristics were found. From a strictly morphological view *T. dasyliriifolia* mesophyll cells have a relative large vacuole and few chloroplasts, where water and malic acid can be stored resembling the assimilatory cells of typical CAM plants (Osmond, 1978; Guralnick and Jackson, 2001). Also, the presence of large intercellular spaces that facilitate gas diffusion within the voluminous water storing tissue, contribute to describe the architecture of a CAM performing plant. On the other side, the presence of a vascular bundle sheath has been taken as a distinctive characteristic of C₄ plants. Since morphology can not indicated clearly the kind of photosynthetic adaptations that *T. dasyliriifolia* has developed in order to adapt to the harsh semiarid conditions of the Zapotitlán Valley, physiological indicators were explored.

One indicator of the photosynthetic physiology is the succulence index, mainly for those plants with mesophyll cells containing prominent vacuoles and large air spaces that could facilitate gas diffusion since the vacuoles can store both water and malic acid (Osmond, 1978). The mesophyll succulence of *T. dasyliiriifolia* is 1.6 a very similar value to the 1.52 obtained for *Tillandsia usneoides* (Medina et al. 1977), 1.34 and 2.45 for *Kalanchoe daigremontana* and *Kalanchoe blossfeldiana* (Kluge and Ting, 1978) which are considered as a low grade succulence (Medina et al., 1977; Sayed, 1998). This data strongly indicate that succulence indeed is one of the relevant adaptations for plant survival in semiarid ecosystem.

A second aspect of the photosynthetic physiology is the CO₂ fixation mechanism. *Tillandsia dasyliiriifolia* has a main CO₂ uptake during the dark hours specially during the summer. However there is a significant CO₂ incorporation during spring light diurnal hours. Taking this behaviour along with the presence of a spongy mesophyll could be indicative of a CAM performing plant. However, the diurnal CO₂ incorporation indicative of a partial stomata opening and the presence of a bundle sheath with chloroplasts around the vascular tissue again indicates a C₄ plant.

High night CO₂ uptake, when temperatures are not high have been found in many CAM species, including several Agavaceae (Nobel, 1984; 1985; Nobel and Quero, 1986) According to Osmond's classification (1978), CO₂ uptake in *T. dasyliiriifolia* is made in Phase II and IV indicating that *T. dasyliiriifolia* presents the four phases of CAM metabolism (Ting, 1985). Carbon dioxide losses during phase III is related with high midday temperatures, as has been reported for *Agave lechuguilla* (Nobel and Quero, 1986). In *T. dasyliiriifolia* the cost of succulence might result in an increase in their radiate load on the leaves, due to stomata closure at midday, during dry season, as happens for other CAM species (Nobel, 1984) or other arido-active C₄ species (von Willert et al., 1992).

Although there is a variation in the photoperiodic response among different CAM species (Ting, 1985), a possible mechanism has not yet been proposed. Changes in activity of phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPc) has been noted in some species subjected to short day treatments, and it have been associated to a switch from C₃ to CAM in CAM facultative plants (Winter et al., 1978). A C₄ plant that slightly opens their stomata has an advantage in CO₂ fixation, that has been associated with an increase in water use efficiency (Edwards and Walker, 1983). A plant that can shift from C₄ to CAM or viceversa, show a higher survival rate when exposed to a water stress similar to that of a C₃-CAM shifting plant (Winter, 1985, Edwards et al., 1996). Metabolically, this shift brings an increase in PEPc use and activity within the tissue (Koch and Kennedy, 1980; Nishio and Ting, 1987).

Photosynthetic shift has been reported not only as an adaptive faculty in semiarid plants but also to plants exposed to extreme dryness. It has been reported that *Portulaca oleracea* shift from a C₄ metabolism during the wet season to a CAM CO₂ fixation during the dry season allowing a better control of water economy than using a single photosynthetic mechanism (Koch and Kennedy, 1980; Sayed, 1988; Lara et al., 2004). This finding can not be taken as the general rule since it has been reported that there is some diurnal CO₂ fixation for some CAM plants, depending their class (Ting, 1985).

Up to now, the studies dealing with some true C₄-CAM intermediate species have been restricted to three succulent dicotyledons e.g. *Peperomia camptotricha* (Nishio and Ting, 1987; 1993), *Portulaca oleracea* (Koch and Kennedy, 1980;1982; Mazen, 1996) and *Portulaca grandiflora* (Ku et al., 1981; Kraybill and Martin, 1996; Guralnick and Jackson, 2001; Guralnick et al., 2002; Lüttge, 2004). In *Portulaca* species, Sage (2002) concludes that C₄-CAM coupling is not accomplished and that both pathways only occur side by side in this C₄-CAM intermediate species. This strategy might be adopted as well in *T. dasyliriifolia*.

It has been reported that CO₂ uptake can be related to photoperiod. In *Hesperaloe funifera*, photoperiod and phenology influences CO₂ uptake, as indicated by leaf emerging and biomass increase that can also be related to monthly changes in titrable acidity (Ravetta and McLaughlin, 1996). In *T. dasyliriifolia*, a slight but significant increase in titrable acidity was obtained two to four hours after the maximal stomata conductance, indicating the increase in malic and other organic acids. This increase also correlates to those hours where environmental temperature was lower.

Crayn and co-workers (2004), reported that among Tillandsioideae, 233 out of 788 species sampled, most of them from the genus *Tillandsia*, were CAM plants whereas others were C₃ plants. However, Maxwell et al. (1994) reported a C₃-CAM bromeliad epiphyte *Guzmania monostachia*, but no C₄ or C₄-hybrid in this group has been reported before. For *Biernertia cycloptera* (Chenopodiaceae) growing in salty semi-desert depressions of Central Asia, exhibits an unusual chlorenchyma and lacks the usual Kranz anatomy but has photosynthetic features of C₄ plants (Voznesenskaya et al., 2002). Sage and Monson (1999) have particularly demonstrated that most species of the Chenopodiaceae family are C₄ and has provided valuable information dealing with the evolution of the C₄ anatomy. All of these works suggest the adaptive versatility of plants under harsh stressing environments.

It has been considered that CAM plants have an ecophysiological success to inhabit arid environments mainly because their water loss is minimized during daytime; C₄ plants are less efficient in water loss control but tolerate more stressful light and temperature conditions along with restricted water availability. The anatomical, stomatal closure, titrable acids and CO₂ fixation characteristics strongly indicates that *Tillandsia dasyliriifolia* is a CAM-C₄ plant whose adaptations made them optimal to tolerate the extremely harsh conditions for an

epiphyte growing in a semiarid region, like the Zapotitlán Valley. Further studies are needed to search for biochemical enzyme activities and molecular adaptations present in *T. dasyliiriifolia* for a better understanding of the processes involved.

References

- Adams III, W.W. and C.E. Martin. 1986. Physiological consequences of changes in life form of the Mexican epiphyte *Tillandsia deppeana* (Bromeliaceae). *Oecologia* 70:298–304.
- Arizaga, S. and E. Escurra. 2002. Propagation mechanisms in *Agave macroacantha* (Agavaceae), a tropical arid-land succulent rosette. *American Journal of Botany* 89:639–641.
- Barcikowski, W. and P.S. Nobel. 1984. Water relations of cacti during desiccation: distribution of water in tissue. *Botanical Gazette* 145:110-115.
- Benzing, D.H. 1990. Vascular epiphytes. General biology and related biota. Cambridge University Press. Cambridge 354 pp.
- Benzing, D.H. 2000. Bromeliaceae: Profile of an adaptive radiation (G.Bennett, G. Brown, M.Dimmit, H.Luther, I.Ramírez, R. Terry, W. Till) Cambridge University Press. Cambridge. 690 pp.
- Burcschka, C., Lange, O.L. and W. Hartung. 1985. Effects of abscisic acid on stomatal conductance and photosynthesis in leaves of intact *Arbutus unedo* plants under natural conditions. *Oecologia* 67:593-595.
- Crawford, R.M.M. 1989. Studies in Plant Survival. Blackwell Scientific Publications. Oxford. 296 pp.
- Crayn, D.M., Winter, K. and J.A.C. Smith. 2004. Multiple origins of crassulacean acid metabolism and the epiphytic habit in the Neotropical family Bromeliaceae. *Proceeding of the National Academy of Sciences* 101: 3703-3708.
- Delf, E.M. 1912. Transpiration in succulent plants. *Annals of Botany* 26:409-440.
- Edwards, G. and D.A. Walker. 1983. C₃; C₄ Mechanisms and Cellular and environmental regulation of photosynthesis. Blackwell Scientific Publications. Oxford. 542 pp.

- Edwards G.E., Dia, Z., Cheng, S.H. and M.S.B. Ku. 1996.. Factors affecting the induction of crassulacean acid metabolism in *Mesembryanthemum crystallinum*. In Winter, K & Smith J.A.C. (Eds.) Crassulacean acid metabolism Springer Verlag Berlin. 449 pp.
- Eltheringer, J. R. 1985. Annuals and perennials of warm deserts. In B. F. Chabot and D. A. Mooney [eds.], Physiological ecology of north plant communities, 162–180. Chapman & Hall, New York, New York, USA-
- García, E. 1987 Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones climáticas de la República Mexicana), 4th ed. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México
- García-Suárez, M.D., Rico-Gray, V. and H. Serrano. Distribution and Abundance of *Tillandsia* spp. (Bromeliaceae) in the Zapotitlán Valley, Puebla, México. *Plant Ecology* 166:207-215.
- Griffiths, H. and J.A.C. Smith. 1983. Photosynthetic pathways in the Bromeliaceae of Trinidad: relations between life-forms, habitat preference and the occurrence of CAM. *Oecologia* 60:176–184.
- Griffiths, H., Lüttge, U., Stimmel, K.H., Crook, C.E., Griffiths, N.M. and J.A.C. Smith. 1986. Comparative ecophysiology of CAM and C3 bromeliads. III. Environmental influences on CO₂ assimilation and transpiration. *Plant Cell and Environment* 9:385-393.
- Guralnick, L.J., Edwards, G., Ku, M.S.B., Hockema, B. and V.R. Franceschi. 2002. Photosynthetic and anatomical characteristics in the C₄-crassulacean acid metabolism-cycling plant, *Portulaca grandiflora*. *Functional Plant Biology* 29:763–773.
- Guralnick, L.J. and M.D. Jackson. 2001. The occurrence and phylogenetics of Crassulacean acid metabolism in the Portulacaceae. *International Journal of Plant Science* 162:257–262
- Hatch, M.D. and C.R. Slack. 1970. The C₄ carboxylic acid pathway of photosynthesis. pp.35-106. In Reinhold L and Liwschitz Y, eds., *Progress in Phytochemistry*. Wiley-Interscience, New York.

- Inskeep, W.P. and P.R. Bloom. 1985. Extinction coefficients of chlorophyll a and b in N, N- Dimethylformamide and 80% of acetone. *Plant Physiology* 77:483-485.
- Koch, K.E. and R.A. Kennedy. 1980. Characteristics of crassulacean acid metabolism in the succulent C₄ dicot *Portulaca oleraceae* L. *Plant Physiology* 65: 193-197.
- Koch, K.E. and R.A. Kennedy. 1982. Crassulacean acid metabolism in the succulent C₄ dicot, *Portulaca oleracea* L. under natural environmental conditions. *Plant Physiology* 69:757-761.
- Kluge, M. and I.P.Ting. 1978. Crassulacean acid metabolism: analysis of an ecological adaptation. Berlin: Springer-Verlag. 209 pp
- Kraybill, A. A. and C.E.Martin. 1996. Crassulacean acid metabolism in three species of the C₄ genus *Portulaca*. *International Journal of Plant Science* 157:103-109.
- Ku, M.S.B., Shieh, Y.J., Reger, B.J. and C.C. Black. 1981. Photosynthetic characteristics of *Portulaca grandiflora* a succulent C₄ dicot. Cellular compartmentation of enzymes and acid metabolism. *Plant Physiology* 68:1073-1080.
- Lara, M.V., Drincovich, M.F., and C.S. Andreo. 2004. Induction of a crassulacean acid like the C₄ succulent plant, *Portulaca oleracea* L. a study of enzymes involved in carbon carbohydrate metabolism. *Plant Cell Physiol.* 45:618-626.
- Larcher, W. 1973. Oekologie der Pflanzen. Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer.
- Lüttge, U. 1987. Carbon dioxide and water demand: crassulacean acid metabolism (CAM) a versatile ecological adaptation exemplifying the need for integration in ecophysiological work. *New Phytol.* 106:593-629.
- Lüttge, U. 2004. Ecophysiology of Crassulacean Acid Metabolism (CAM). *Annals of Botany* 93:629-652.
- Martin, C. E. 1994. Physiological ecology of the Bromeliaceae. *The Botanical Review* 60: 1-82.
- Martin, C.E. and J.N.Siedow. 1981. Crassulacean acid metabolism in the epiphyte *Tillandsia usneoides* (Spanish moss). *Plant Physiol* 68:335-339.

- Martin, C.E. and W.W. Adams, III. 1987. Crassulacean acid metabolism, CO₂-recycling, and tissue desiccation in the Mexican epiphyte *Tillandsia schiedeana* Steud. (Bromeliaceae). *Photosynthesis Research* 11:237-244.
- Martin C.E. and A.K.Schmitt. 1989. Unusual water relations in the CAM atmospheric epiphyte *Tillandsia usneoides* L. (Bromeliaceae). *Botanical Gazette* 150:1–8.
- Martin, C.E., Christensen, N.I. and B.R. Strain. 1981. Seasonal patterns of growth, tissue acid fluctuations and CO₂ uptake in the crassulacean acid metabolism epiphyte *Tillandsia usneoides* L. (Spanish Moss). *Oecologia* 49:322-328.
- Maxwell C, Griffiths H, and A.J. Young.1994. Photosynthetic acclimation to light regime and water stress by the C₃-CAM epiphyte *Guzmania monostachia*: gas-exchange characteristics, photochemical efficiency and the xanthophyll cycle. *Functional Ecology* 8:746–754.
- Medina, E., Delgado, M. Troughton, J.H. and J.D. Medina. 1977. Physiological ecology of CO₂ fixation in Bromeliaceae. *Flora* 166:137-152.
- Mazen, A.M.A. 1996. Changes in levels of phosphoenolpyruvate carboxylase with induction of crassulacean acid metabolism (CAM)-like behavior in the C₄ plant *Portulaca oleracea*. *Physiologia Plantarum* 98:111–116.
- Nishio J.N. and I.P. Ting. 1987. Carbon flow and metabolic specialization in the tissue layers of the crassulacean acid metabolism plant, *Peperomia campotricha*. *Plant Physiology* 84:600-604.
- Nishio, J.N. and I.P. Ting. 1993. Photosynthetic characteristics of the palisade mesophyll and spongy mesophyll in the CAM/C₄ intermediate plant *Peperomia campotricha*. *Botanica Acta* 106:120–125.
- Nobel, P. S.1984. Productivity of *Agave deserti*; measurement by dry weight and monthly prediction using physiological responses to environmental parameters. *Oecologia* 64:1-7.
- Nobel, P.S. 1985. PAR, water and temperature limitations on the productivity of cultivated *Agave fourcroydes* (henequen). *Journal of Applied Ecology* 22:157-173.
- Nobel, P.S. 1988. Environmental biology of agaves and cacti. Cambridge University Press, New York. 270 pp

- Nobel, P.S. and E. Quero. 1986. Environmental productivity indices for Chihuahuan desert CAM plant *Agave lechugilla*. *Ecology* 67:1-11.
- Nobel, P.S. and E. Barrera, de la. 2003. Tolerances and acclimation to low and high temperatures for cladodes, fruits and roots of a widely cultivated cactus, *Opuntia ficus-indica*. *New Phytologist* 157:271–279.
- Nowak, E.J. and C.E. Martin. 1997. Physiological and anatomical responses to water deficits in the CAM epiphyte *Tillandsia ionantha* (Bromeliaceae). *International Journal of Plant Sciences* 158:818–826.
- Osmond, C.B. 1978. Crassulacean acid metabolism: a curiosity in context. *Annual Review of Plant Physiology* 29:379-414.
- Osmond, C.B., Williams, W.A. and S.D. Smith. 1989. Crassulacean acid metabolism In: Pearcy, R.W., Ehleringer, J.R., Mooney, H.A. & Rundel, P.W. (Eds), *Plant Physiological Ecology* Chapman & Hall. London. 255-280 pp.
- Radoglous, K.M. and P.G. Jarvis. 1992. Effects of CO₂ enrichment and nutrient supply on growth and leaf anatomy of *Phaseolus vulgaris* L. seedlings. *Annals of Botany* 90:245-246.
- Ravetta D.A. and S.P. McLaughlin. 1996. Ecophysiological studies in *Hesperaloe funifera* (Agavaceae): a potential new CAM crop. Seasonal patterns of photosynthesis. *Journal of Arid Environment* 33:211-223.
- Reinert, F. and S.T. Meirelles. 1993. Water acquisition strategy shifts in the heterophyllous saxifolious bromeliad, *Vriesia geniculata* (Wawra) Wawra. *Selbyana* 14:80-88.
- Sage, R.F. and R.K. Monson. 1999. *C₄ Plant Biology*. Academic Press. New York. 596 pp.
- Sage, R.F. 2002. Are crassulacean acid metabolism and C₄ photosynthesis incompatible? *Functional Plant Biology* 29: 775–785
- Sayed, O.H. 1998. Phenomorphology and ecophysiology of desert succulents in eastern Arabia. *Journal of Arid Environment* 40:177-189.
- Smith, L.B. and R.J. Downs. 1977. Tillandsioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica*. Monograph 14, Part 2 Hafner press, New York. 1492pp.

- Smith, J. A. C., Griffiths H. and U. Lüttge. 1986. Comparative ecophysiology of CAM and C3 bromeliads. I. The ecology of the Bromeliaceae in Trinidad. *Plant Cell and Environment* 9:359-376.
- Szarek, S.R. and I.P. Ting. 1975. Photosynthetic efficiency of CAM plants in relation to C3 and C4 plants. In: Marcelle, R. (Ed.) *Environmental and Biological Control of Photosynthesis* pp. 289-297. The Hague. W. Junk. 408 pp.
- Ting, I.P. 1985. Crassulacean acid metabolism. *Annual Review of Plant Physiology* 36:595-622.
- Tomilson, P.R. 1969. Anatomy of the monocotyledons III. Commelinales-Zingiberales. (C.C.R. Metcalfe, ed.) Oxford University Press. Oxford 446 pp.
- von Willert, D.J., Eller, B.M., Werger, M.J.A., Brickmann, E. and H-D. Ehlerfeldt. 1992. *Life Strategies of Succulents in Deserts*. Cambridge : Cambridge University Press. 350 p.
- Voznesenskaya, E.V., Franceschi, V.R., Kiirats O., Artyusheva, E.G. Freitag H. and E.G. Edwards. 2002. Proof of C4 photosynthesis without Kranz anatomy in *Bienertia cycloptera* (Chenopodiaceae). *The Plant Journal*. 31: 649-662.
- Winter, K. 1985. crassulacean acid metabolism. In: Barber J. Baker NR (eds) *Photosynthetic mechanism and the environment*. Elsevier, Amsterdam, pp. 329-387.
- Winter, K., Lüttge, U., Winter, E. and J. Troughton. 1978. Seasonal shift from C3 photosynthesis to crassulacean acid metabolism in *Mesembrianthemum crystallinum* growing in its natural environment. *Oecologia* 34:225-237.
- Zotz, G. and J-L. Andrade. 1998. Water relations of two co-occurring epiphytic bromeliads. *Journal of Plant Physiology* 152:545–554.
- Zotz G. and P. Hietz. 2001. The physiological ecology of vascular epiphytes: current knowledge, open questions. *Journal of Experimental Botany* 52:2067-2078.

Table 1. SUCCULENCE STATUS AND CHLOROPHYLL CONTENT
OF *Tillandsia dasyleriifolia*.

Characteristic	
Surface expansion (SEI)	7 cm ² g ⁻¹
Succulence index (S)	0.6 g dm ⁻²
Mesophyl succulence Index (Sm)	1.6
Total chlorophyll	16.902 ± 0.2 µg g ⁻¹
Chlorophyll a	0.496 ± 0.035 µg g ⁻¹
Chlorophyll b	7.41 ± 0.6 µg g ⁻¹
Relative Water Content (RWC)	232 ± 12 mg g ⁻¹

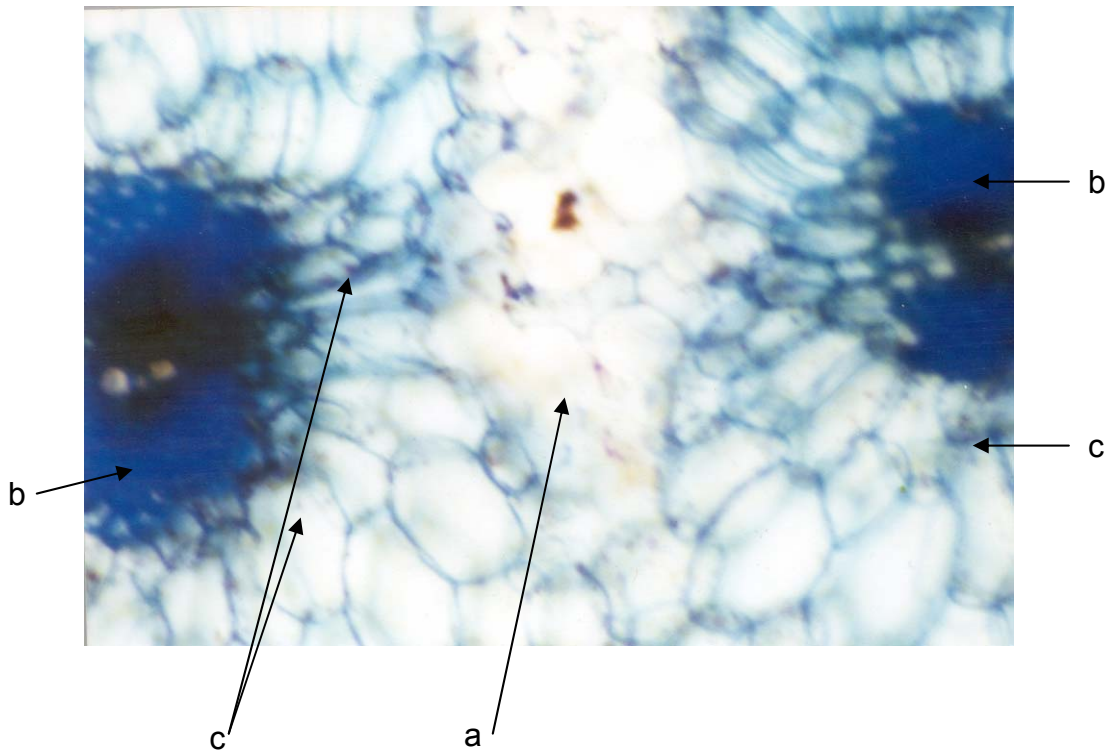


Figure. 1. Transversal leaf cut of *T. dasyliriifolia* (a) aerenchyma tissue between (b) vascular tissue with perivascular fibers, surrounded by bundle sheath and mesophyll cells (c).

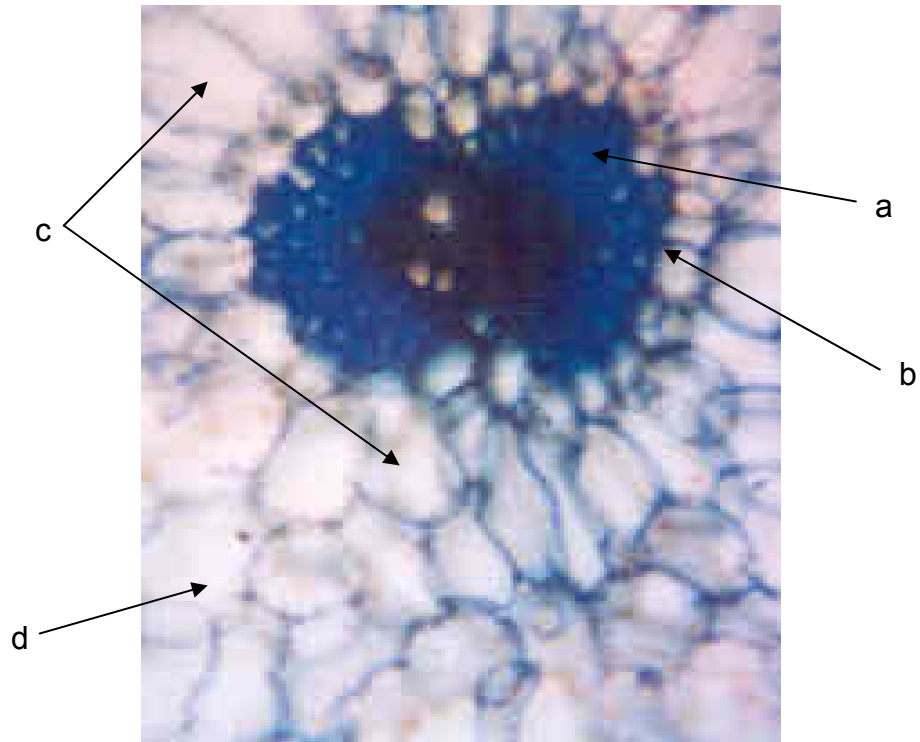


Figure 2. Vascular bundle of *Tillandsia dasyliriifolia* (a) enclosed in fibers(b) bundle sheath with thin walls and chloroplasts(c) mesophyll cells (d) chlorenchyma tissue.

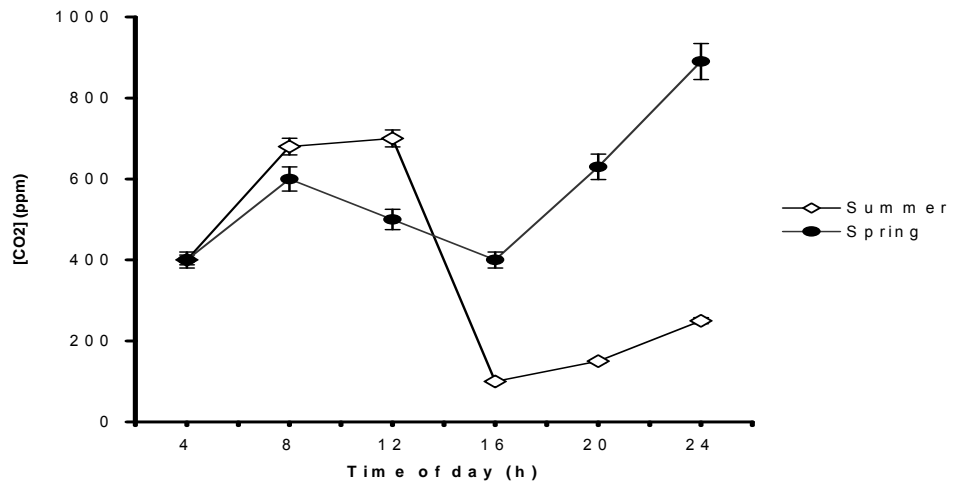


Figure 3. CO₂ fixation in *T. dasyliriifolia*. Photosynthetic activity was measured by IRGA as described under Material and Methods. Data are the mean \pm sd of at least 5 individual measurements on the same plants along a 24 h period during spring (filled dots) or summer (empty diamonds).

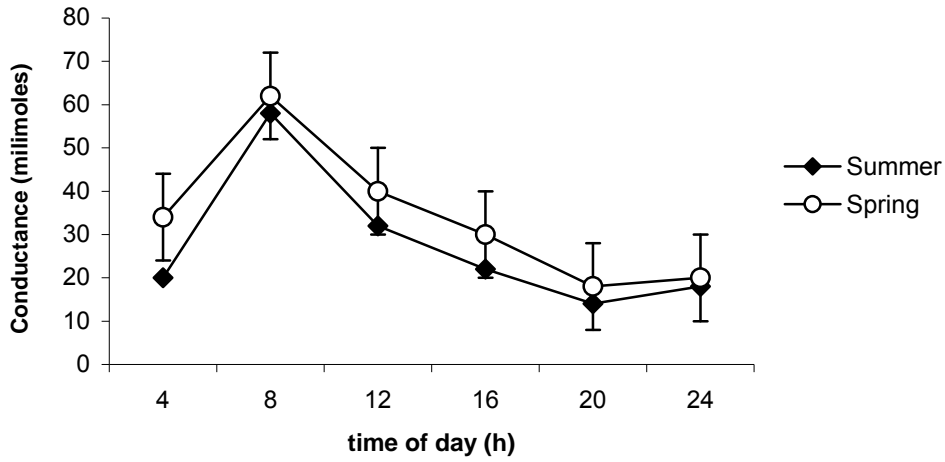


Figure 4. Stomatal conductance. Electrical conductance from *Tillandsia dasylyriifolia* was measured as described under Material and Methods. Data from at least five individuals were recorded during a 24 hr period during the sunniest year periods. Data are mean \pm sd.

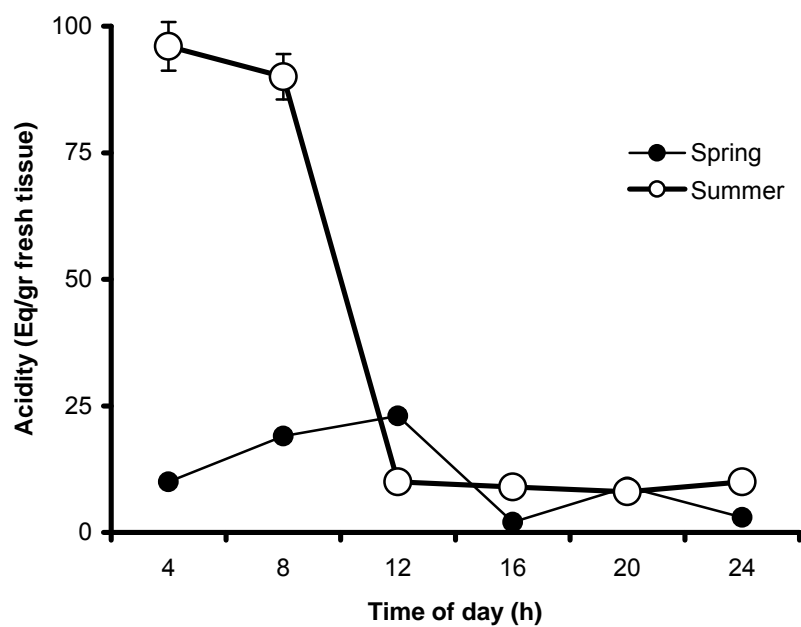


Figure 5. Titrable acidity from *Tillandsia dasyliriifolia*. Leaves from two different year periods were extracted as described in Material and Methods. Data from spring and summer evaluations are given on organic (malic acid) equivalents. Data are mean \pm sd from at least five independent extractions.

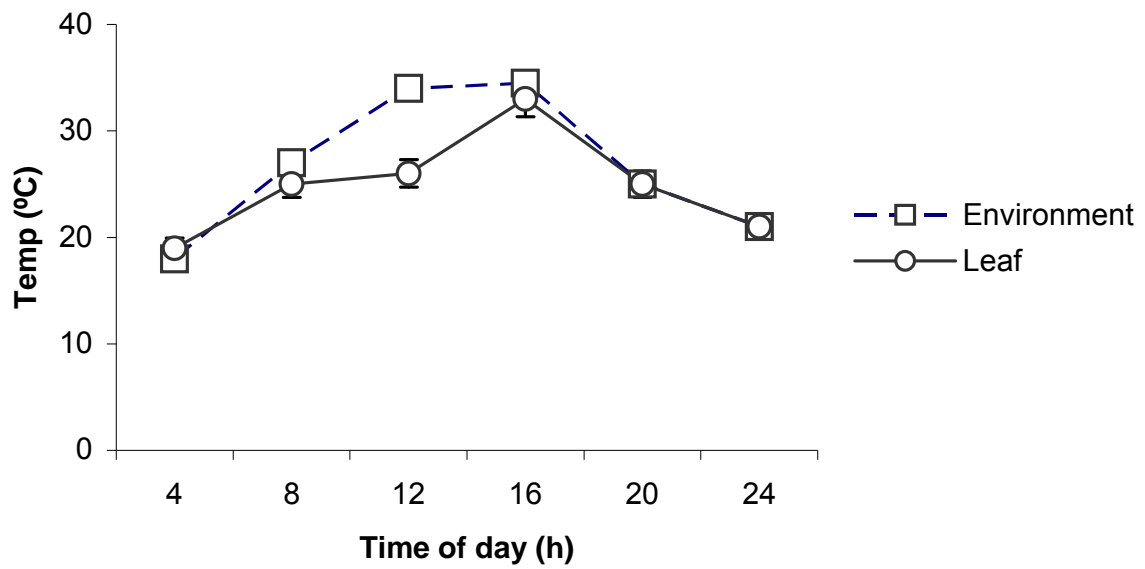


Figure 6. Environmental and leaf temperatures from *T. dasyliriifolia* were evaluated by IRGA during the summer. Data are mean \pm sd of at least three independent determinations



CAPITULO V

CONCLUSIONES

CONSIDERACIONES FINALES.

La vegetación del Valle de Zapotitlán, ha sido considerada como un relictos del matorral xerófilo que imperó en todo el Valle de Tehuacán, sin embargo la estabilidad de este ecosistema se ve afectada día a día debido al crecimiento de la población humana y a la satisfacción de sus necesidades primarias por lo que el efecto de destrucción del hábitat ha traído cambios en la estructura y distribución de las poblaciones de especies que conforman los diferentes tipos de comunidades vegetales existentes en el Valle.

Las epífitas presentadas en este estudio, no son la excepción y han sufrido los efectos de la destrucción de sus hábitats frecuentemente restringidos en cuanto a su distribución geográfica en forma de parches junto con las especies que les brindan hospedaje, sus forofitos, constituyéndolas como formas de vida amenazadas. El estatus endémico de *T. califanii*, así como el de sus hospederos, aspecto que en general para el Valle tiene relevancia pues el 30% de las especies vegetales que se encuentran ahí, presentan esta característica y su conservación *in situ*, es prácticamente el mejor método para mantener estas especies, siendo entonces la deforestación el método principal que contribuye a su pérdida. Así, los cambios en la demografía de los hospederos, podrían predecir el futuro de su distribución y conservación y afectarían indudablemente la demografía de las epífitas y su sobrevivencia (Norton et al., 1995; García Suárez et al., 2003; García Suárez et al., 2006).

La distribución espacial de las poblaciones de *Tillandsia dasyliriifolia* y de las especies epífitas con las que coexiste *Tillandsia califanii* y *Tillandsia recurvata*, dependen de diferentes aspectos ecológicos y fisiológicos que han permitido su establecimiento en el ambiente árido del Valle de Zapotitlán. Los sitios donde se han establecido han sido seleccionados por aspectos tanto bióticos como abióticos dando una distribución particular dentro del Valle. En este estudio se observó que *Tillandsia califanii* y *T. dasyliriifolia* resultaron ser especies específicas en la selección del hospedero (*Beaucarnea gracilis*) en el 'Izotal' y *Cephalochereus columna trajanii* en el "Cardonal" no así para *T. recurvata* que se observa en otros hospederos. Sin embargo, estas *Tillandsia* pareciera que utilizan los cactus columnares como hospederos en el 'Cardonal', posiblemente debido a una reducción de la abundancia de la vegetación del Izotal y a la transformación del área debido a la eliminación de la vegetación original por extracción para comercio, pastoreo en el área por chivos y/o la necesidad de transformar la tierra para cultivo de áreas previamente ocupadas por *B. gracilis* (Cardel et al., 1996).

El tipo de crecimiento de las epífitas encontradas en estas dos comunidades vegetales se pueden considerar como semejante a lo que ocurre en bosques secundarios y muy distantes de lo que ocurre en bosques considerados como primario o maduros (Barthlot et al., 2001; Krömer y Gradstein, 2003). La semejanza consiste en la baja abundancia y diversidad de epífitas, siendo un ambiente menos heterogéneo formado por una estructura de árboles con poca diversidad como ocurre tanto en el Izotal como en el Cardonal (García Suárez et al., 2003; Zavala-Hurtado, 1982). La distribución y abundancia de las Bromeliaceae en esta zona árida se da principalmente a la disponibilidad de sustratos hospederos adecuados para su establecimiento y está en relación con la posibilidad de retener condiciones de humedad adecuada y una menor cantidad de luz que les favorezcan. La dispersión de sus semillas y su establecimiento en las zonas áridas se encuentran relacionadas principalmente con la disponibilidad de los vientos que se presentan durante la época de maduración de sus semillas

así como la presencia de humedad relativa y disponibilidad de agua para su desarrollo, siendo entonces estos factores abióticos como los que contribuyen con la capacidad de movimiento de las semillas: de su dispersión y finalmente de su posible establecimiento.

Las tres especies de *Tillandsia* observadas en este estudio presentan semillas con testa con pelos coma (Smith y Downs, 1977) que permiten su transporte hacia sitios aparentemente alejados de su origen, indicando tal vez que aún en ausencia de los árboles de *Beucarnea gracilis* donde se encuentran más abundantemente puedan colonizar sitios como los árboles que conforman el cardonal que se encuentran más alejados, aspectos que debe ser probado, aunque las observaciones de presencia de plantas de menor talla podrían indicar que las poblaciones son más recientes que las encontradas en las *Beucarnea* o bien indicar que factores ambientales influyen en la morfología de las *Tillandsia* que habitan una comunidad vegetal u otra.

La distribución en parches de estas epífitas, particularmente *T. dasyliiriifolia* y *T. califanii*, reflejan la distribución de los hospederos preferenciales. De las tres especies de Bromeliaceae de este estudio se observó que *Tillandsia recurvata* fue la única bromelia con características que le permitieron ocupar otro hospedero (*Cercidium praecox*), estudiado previamente por Montaña et al. (1997).

La conservación de las especies se basan en tres aspectos: su distribución, abundancia y la especificidad de su habitat particular. La inestabilidad del hábitat, parches y estrés físico inducen una mortalidad independientemente de la densidad de las poblaciones, no teniendo el mismo efecto en cada una de las edades siendo para *Tillandsia dasyliiriifolia* la mortalidad de adultos menor a la de los juveniles (García Suárez et al., 2003). Zotz et al. (2001) puntualizan que se hace necesario evaluar con mayor detenimiento y desde el punto de vista fisiológico el

efecto de la edad en *Tillandsia* el a fin de poder conocer con mayor profundidad los aspectos relacionados con su dinámica poblacional.

El realizar el estudio poblacional de *T. dasyliiriifolia* y compararla con las otras dos especies de epífitas con la que co-ocurre compartiendo los dos forofitos particulares donde se encuentra en un ambiente semiárido, permitió evaluar su abundancia en relación a la disponibilidad de espacio en sus hospederos, así como realizar algunos estudios comparativos de otros aspectos de su ecofisiología.

Germinación

La germinación de las especies probadas *Tillandsia dasyliiriifolia* y *Tillandsia califanii*, especies simpátricas y cuya morfología de tanque es bastante similar, principalmente en los primeros estados de crecimiento, ambas especies se comportan de manera distinta:

Tillandsia dasyliiriifolia es una planta cuya inflorescencia ramificada produce varios miles de semillas. Su germinación es exitosa, después de elaborar diferentes pruebas en el laboratorio se demostró su alta capacidad germinativa. Sin embargo, bajo condiciones de campo fue difícil observar la capacidad germinativa, en las pruebas de germinación *in situ* que permitiesen observar bajo condiciones experimentales su germinación y su posterior establecimiento tanto de plántulas provenientes de la germinación *in situ* como *in vitro*. Al igual que para otras especies semélparas, la energía de la planta se dedica principalmente al evento reproductivo sexual y a su vez contempla la formación de brotes asexuales en la base de plantas adultas, previo al esfuerzo reproductivo. No existen estudios relacionados con la reproducción clonal de las epífitas, más sin embargo, como ocurre para otras especies, es muy probable que los hijuelos contribuyan aportando energía para el evento reproductivo sexual conformando un genet como lo describen Harper y White (1974).

T. califanii presenta diferentes problemas en su sobrevivencia dada la baja viabilidad de sus plántulas a pesar de haber obtenido un 60% de germinación, se oxidan y mueren, representando un reto dentro de la investigación a fin de favorecer e incrementar el porcentaje de germinación y la sobrevivencia de las plántulas, lo que invita a realizar diferentes pruebas que puedan favorecerlas (García Suárez et al., 2006).

Para *T. dasyliriifolia* cuya germinación se da bajo diferentes condiciones, su sobrevivencia y establecimiento se basa principalmente en la disponibilidad del agua, factor limitante en un ambiente semiárido como el Valle de Zapotitlán, y un reto a salvar principalmente durante estas primeras etapas de su ciclo de vida. Las semillas germinadas en las cápsulas como ocurre también para otras especies, representan una incognita de cómo pueden establecerse ya dentro de la población o si éstas perecen al no tener un sitio adecuado de anclaje para su posterior crecimiento.

Otro punto de vista sería que el establecimiento de sus plántulas se puede dar de manera muy cercana a la planta madre coincidiendo con lo observado para bosques tropicales primarios y secundarios (Benzing, 1978; Hietz y Hietz-Zeifert, 1995 a,b; Bader et al., 2000; Barthlott et al., 2001) aunque un aspecto importante en el área de Zapotitlán, es la presencia de buenos vientos durante la temporada de dispersión (febrero-marzo). Si se contempla el aspecto micro-climático las posibilidades de sobrevivencia de las plántulas para las especies de *T. califanii* y *T. dasyliriifolia* son las mismas aunque de alguna manera la cantidad de luz además de la humedad puede estar influyendo para su final establecimiento ya que existe cierta preferencia con respecto a su orientación ya dentro del forofito y finalmente la luz, influir en la talla alcanzada por los individuos adultos en cada comunidad (García Suárez et al., 2003).

Al igual que en un estudio previo (Benzing, 1978), observar la germinación en el campo fue imposible evaluarla, con lo que se apoya la hipótesis de que la presencia del agua es un factor limitante para que ésta se realice así como su posterior crecimiento y desarrollo, la presencia de una corteza porosa y capaz de retener agua puede contribuir favorablemente al establecimiento más abundante de las especies de *Tillandsia* en el Izotal, aunado a esto hay un mayor número de sitios probables por las ramas que presenta *Beucarnea gracilis* como hospedero. En el Cardonal la restricción principal se da debido a la morfología propia del cacto columnar así como también a la exposición más directa al sol debido a la ausencia de hojas que contribuyan a un sombreado parcial como ocurre en el Izotal.

La fase posterior al establecimiento, una vez pasada la etapa crítica de plántula, también ha sido poco explorada. Se tiene poca información sobre el momento en el que comienzan la relación entre el huésped y el hospedero, ni de los costos, en términos de competencia por recursos y reducción de la radiación por la copa del árbol, que las plantas epífitas experimentan por permanecer por debajo o dentro de la copa de los árboles hospederos.

La sobrevivencia de las plántulas y su posterior desarrollo es desconocido hasta ahora para especies de zonas áridas y semiáridas, vislumbramos algunos aspectos con las pruebas realizadas con diferentes medios de cultivo con ausencia de algunos minerales como P, K, N, Fe., pero esto no indica como puede seleccionarse un sitio seguro, con adecuada luz, temperatura, humedad y recursos minerales que permitan su posterior crecimiento.

Para entender la dispersión de las semillas, su establecimiento, sobrevivencia y posterior desarrollo hacia los estados juveniles y adultos debe hacerse un estudio más exhaustivo respecto a su dispersión, evaluando la dirección de los vientos, considerar algunos aspectos de la orientación topográfica, cantidad de semilla producida por especie y abundancia de plantas en edad reproductiva en la población así como también considerar la distribución de los forofitos en el

diferentes localidades del Valle de Zapotitlán, Puebla. Al respecto, Zotz y Hietz, (2001), sugieren la necesidad de realizar estudios integrales sobre la biología de las epífitas desde los aspectos fisiológicos relacionados con la inestabilidad de los sustratos y aspectos de su dispersión, herbivoría y competencia (Winkler et al., 2005).

Morfoanatomía y fijación del CO₂

Contemplando otros aspectos de la ecofisiología de estas *Tillandsia*, las características morfo-anatómicas de *Tillandsia dasyliiriifolia* permiten describirla como una epífita extrema, con capacidad de explotar un hábitat difícil, árido o semiárido ya que ha desarrollado interesantes mecanismos adaptativos, como son los tricomas absorbentes, capas celulares de tejido de almacenamiento de agua y capacidad de almacenamiento de nutrimentos.

Tillandsia dasyliiriifolia puede tolerar exposiciones directas de sol, la morfo-anatomía de sus hojas gruesas, cutinizadas y con tricomas impiden que mucha de la luz captada llegue a las células fotosintetizadoras posiblemente debido a que es absorbida en gran parte por el tejido especializado en el almacenamiento de agua que se encuentra por debajo de la epidermis. Los tricomas reflejantes que se encuentran en la epidermis pueden contribuir con la disminución de la temperatura hacia el interior del mesófilo. Una excesiva pérdida de agua por transpiración puede ser controlada con la presencia de una epidermis cutinizada, estomas hundidos y la presencia de esclerénquima. A su vez los estomas en contacto con el aerénquima interfascicular pueden incrementar la eficiencia del intercambio gaseoso. Todos estos aspectos requieren un estudio más profundo que compruebe las posibilidades sugeridas.

En *Tillandsia dasyliiriifolia*, el mesófilo es considerado como suculento, debido a la presencia de amplias vacuolas que abarcan prácticamente el lumen celular y de los cloroplastos periféricos, considerándose como un índice de capacidad del

mecanismo fotosintético CAM. Al mismo tiempo, la presencia de las células de la vaina alrededor de los haces vasculares, sugieren el mecanismo C₄. Sin embargo, como se encontró en el presente estudio la toma de CO₂ tanto nocturna como diurna finalmente sugiere que esta planta tenga un metabolismo híbrido CAM-C₄, que no necesariamente tenga la capacidad de actuar al unísono, sino que pueda complementarse en respuesta a las variaciones ambientales.

La raíz de *T. dasyliiriifolia* es un órgano que se encuentra reforzado tanto por una exodermis pluriestratificada, así como el anillo masivo de fibras corticales que contribuyen a evitar la pérdida de agua, el velamen cumple con la función de almacenamiento de agua y nutrimentos con lo que puede tolerar el estrés hídrico causado por el ambiente xérico a la vez que sirve de sostén de la propia planta.

Es importante continuar con las investigaciones en la familia Bromeliaceae epífitas, y se debe tomar en cuenta los avances y sugerencias que para el grupo son pertinentes a fin de poder realizar investigación comparativa que dé mayores respuestas relacionadas con las interacciones de estas formas de vida y de los forofitos que las hospedan. Los avances que hasta ahora se han realizado respecto a los estudios en bromélias epífitas se encuentran relacionados con la investigación en el campo de la taxonomía (Luther, 2000); y en menor grado respecto a la fisiología y ecología, siendo los primeros realizados hasta ahora en unas cuantas especies (Lüttge, 2004) y los estudios en ecología se han realizado con especies de fácil acceso, por el sitio que ocupan en los árboles evitando las especies que ocupan los estratos arbóreos en árboles de gran envergadura. Finalmente los estudios sobre la ecofisiología hasta ahora realizados en especies epífitas, se encuentran relacionados con aspectos de pérdida de agua y fotosíntesis en un sólo órgano, como las hojas (Zotz, 1995; Zotz y Thomas, 1999; Zotz y Hietz, 2001; Zotz et al., 2001)

Faltan por hacer estudios básicos de la biología reproductiva de estas especies, si bien se sabe que para las especies de Tillandsioideae su polinización es principalmente por palomillas, colibríes y murciélagos en ambientes méxicos

(Isley, 1987; Sazima et al., 1995) realmente se desconoce para los ambientes áridos. El tipo de síndrome de polinización puede sugerir que para estas especies es el entrecruzamiento, sin embargo se desconoce una estimación apropiada de los requerimientos reproductivos para especies de zonas áridas y semiáridas.

Faltan realizar estudios contemplando el factor de competencia tanto intraespecífica como interespecífica, que no fueron abordados en el presente estudio.

Por otro lado, debe contemplarse estudios sobre la fragmentación de sus forofitos y por ende su aislamiento poblacional que de manera directa e indirecta pueden estar afectando su genética poblacional, pudiéndose formar poblaciones aisladas o sub-poblaciones que se presenten con morfologías en cuanto a tamaño como se observa ya en ambos tipos de comunidades en este estudio. Así mismo, se hace necesario realizar una evaluación adecuada de su genética poblacional a nivel molecular. En particular *Tillandsia califanii* como especie endémica, cuya distribución geográfica se ve limitada al área del Valle y cuya variación genética se encuentra limitada a sus mecanismos reproductivos y a su dispersión.

La conservación de estas especies en el Valle de Zapotitlán, se ve afectada también por la fragmentación de sus comunidades vegetales y el estado genético en que se encuentren las poblaciones de las *Tillandsia*. El aislamiento geográfico puede compararse para *Tillandsia dasyliriifolia* y *Tillandsia recurvata* ya que ocupan una mayor distribución en México, y así evaluar el pool genético existente en el Valle. La pérdida de sus forofitos por causas naturales como vientos es un evento fortuito, principalmente en el caso de *Beaucarnea gracilis*, y es conocido que las especies epífitas que caen al suelo tienen pocas probabilidades de sobrevivencia (Matelson et al., 1993).

El lento crecimiento de estas especies como plantas suculentas y epífitas (Zotz, 1995) hace que la posibilidad de establecimiento y formación de poblaciones

estables conlleva mucho tiempo además de que particularmente en las zonas semiáridas la dispersión y establecimiento bajo condiciones naturales parece ser un evento difícil de evaluar, esto puede cambiar año con año, la sobrevivencia de sus plántulas debe ser una estrategia que se dé durante una época de lluvias abundante que permita el desarrollo de las plántulas y permita un buen establecimiento en un sitio adecuado o seguro, estudios relacionados con este punto son también necesarios.

El presente estudio de la ecofisiología de *Tillandsia dasyliriifolia* permite concluir que es una planta que puede tolerar al estrés de un ambiente semiárido, presenta diferentes adaptaciones morfo-anatómicas y fisiológicas que le han permitido establecerse en ambientes que no son adecuados para otras epífitas. Su estudio contribuye al entendimiento de la dinámica poblacional de esta especie en las comunidades del Valle de Zapotitlán, Puebla, donde hay poca variabilidad de especies epífitas. Sin embargo, falta entender aspectos importantes de la biología reproductiva, de la polinización, tasa de crecimiento, cómo la dispersión de semillas conforma la composición de las poblaciones de esta bromélica en distintas comunidades, que tan lejos dispersan las semillas y las plántulas los vientos, como se afecta su establecimiento y distribución, y finalmente como cambiarán con el tiempo sus poblaciones.

REFERENCIAS

- Bader, M., van Dunné, H.J.F., y H.J. Stuver. 2000. Epiphyte distribution in a secondary cloud forest vegetation: a case study of the application of GIS in epiphyte ecology. *Ecotropica* 15: 181-195.
- Barthlott, W., Schmit-Neuerburg V., Nieder, J. y S. Engwald. 2001. Diversity and abundance of vascular epiphytes: a comparison of secondary vegetation and primary montane rain forest in the Venezuelan Andes. *Plant Ecology* 152:145-156.
- Cardel, Y., Rico Gray, V., García-Franco, J.G, y L.B. Thien. 1996. Ecological status of *Beaucarnea gracilis* Lem. (Nolinaceae): and endemic species of the semiarid Tehuacán Valley, Mexico. *Conservation Biology* 11: 367-374.
- García-Suárez, M.D., Rico-Gray, V. y H. Serrano. 2003. Distribution and abundance of *Tillandsia* spp. (Bromeliaceae) in the Zapotitlán Valley, Puebla, México. *Plant Ecology* 166:207-215.
- García-Suárez, M.D., Rico-Gray, V, Molina-Aceves, N. y H. Serrano. 2006. In vitro Germination and clonal propagation of the endemic *Tillandsia califanii* Rauh (Bromeliaceae) from Mexico. *Selbyana* 27:54-59.
- Harper, J.L. y J. White. 1974. The demography of plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 5: 419-463.
- Hietz, P. y U. Hietz Steifer. 1995a. Composition and ecology of vascular epiphyte communities along an altitudinal gradient in central Veracruz, Mexico. *Journal Vegetation Science*. 6:487-498.
- Hietz, P. y U. Hietz-Seifert. 1995b. Structure and ecology of epiphyte communities of cloud forest in central Veracruz, Mexico. *Journal of Vegetation Science*. 6:719-728.
- Isley III, P.T. 1987. *Tillandsia*. The World's most unusual air plants. Botanical Press. Gardena, Ca. 209 pp.
- Krömer, T. y S.R. Gradstein. 2003. Species richness of vascular epiphytes in two primary forests and fallow in the Bolivian Andes. *Selbyana* 24:190-195.

- Luther, H.E. 2000. An alphabetical list of Bromeliad binomials. The Bromeliad Society International. Sarasota Fl. 82 pp.
- Lüttge, U. 2004. Ecophysiology of Crassulacean Acid Metabolism (CAM). *Annals of Botany* 93: 629-652.
- Matelson, T.J., Nadkarni, N.M. y J.T. Longino. 1993. Longevity of fallen epiphytes in a Neotropical montane forest. *Ecology* 74: 265-269.
- Norton, D.A., Hobbs, R. J. y L. Atkins. 1995. Fragmentation, disturbance and plant distribution: mistletoes in woodland remnants in the western Australian wheat belt. *Conservation Biology* 9: 426-438.
- Sazima, M. Buzato, S. y I. Sazima. 1995. Bat pollination of *Vriesea* in Southeastern Brazil. *Bromelia* 2:29-37.
- Smith, L.B. y R.J. Downs. 1977. Tillandsioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica Monograph* 14. Part 2. Hafner Press, New York. 1492 pp.
- Winkler, M., Hülber, K., Mehlreter, K.V., García Franco, J.G., y P. Hietz. 2005. Herbivory in epiphytic bromeliads, orchids and ferns in a Mexican montane forest. *Journal of Tropical Ecology*. 21:147-154.
- Zavala-Hurtado, J.A. 1982. Estudios ecológicos en el Valle semiárido de Zapotitlán, Puebla I. Clasificación numérica de la vegetación basada en atributos binarios de presencia o ausencia de las especies. *Biotica* 7:99-120.
- Zotz, G. 1995. How fast does an epiphyte grow? *Selbyana* 16:150-154.
- Zotz, G. y J.L.Andrade. 1998. Water relations of two co-occurring epiphytic bromeliads. *Journal of Plant Physiology* 152:545-554.
- Zotz, G. y V. Thomas. 1999. How much water is the tank? Model calculations for two epiphytic bromeliads. *Annals of Botany* 83:183-192.
- Zotz, G. y P. Hietz. 2001. The physiological ecology of vascular epiphytes: current knowledge, open questions. *Journal of Experimental Botany* 52:2067-2078.
- Zotz, G., Hietz P. y G. Schmidt. 2001. Small plants, large plants: the importance of plant size for the physiological ecology of vascular epiphytes. *Journal of Experimental Botany* 52: 2051-2056.

REFERENCIAS

- Bader, M., van Dunné, H.J.F., y H.J. Stuver. 2000. Epiphyte distribution in a secondary cloud forest vegetation: a case study of the application of GIS in epiphyte ecology. *Ecotropica* 15: 181-195.
- Barthlott, W., Schmit-Neuerburg V., Nieder, J. y S. Engwald. 2001. Diversity and abundance of vascular epiphytes: a comparison of secondary vegetation and primary montane rain forest in the Venezuelan Andes. *Plant Ecology* 152:145-156.
- Cardel, Y., Rico Gray, V., García-Franco, J.G, y L.B. Thien. 1996. Ecological status of *Beaucarnea gracilis* Lem. (Nolinaceae): and endemic species of the semiarid Tehuacán Valley, Mexico. *Conservation Biology* 11: 367-374.
- García-Suárez, M.D., Rico-Gray, V. y H. Serrano. 2003. Distribution and abundance of *Tillandsia* spp. (Bromeliaceae) in the Zapotitlán Valley, Puebla, México. *Plant Ecology* 166:207-215.
- García-Suárez, M.D., Rico-Gray, V, Molina-Aceves, N. y H. Serrano. 2006. In vitro Germination and clonal propagation of the endemic *Tillandsia califanii* Rauh (Bromeliaceae) from Mexico. *Selbyana* 27:54-59.
- Harper, J.L. y J. White. 1974. The demography of plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 5: 419-463.
- Hietz, P. y U. Hietz Steifer. 1995a. Composition and ecology of vascular epiphyte communities along an altitudinal gradient in central Veracruz, Mexico. *Journal Vegetation Science*. 6:487-498.
- Hietz, P. y U. Hietz-Seifert. 1995b. Structure and ecology of epiphyte communities of cloud forest in central Veracruz, Mexico. *Journal of Vegetation Science*. 6:719-728.
- Isley III, P.T. 1987. *Tillandsia* . The World's most unusual air plants. Botanical Press. Gardena, Ca. 209 pp.
- Krömer, T. y S.R. Gradstein. 2003. Species richness of vascular epiphytes in two primary forests and fallow in the Bolivian Andes. *Selbyana* 24:190-195.

- Luther, H.E. 2000. An alphabetical list of Bromeliad binomials. The Bromeliad Society International. Sarasota Fl. 82 pp.
- Lüttge, U. 2004. Ecophysiology of Crassulacean Acid Metabolism (CAM). *Annals of Botany* 93: 629-652.
- Matelson, T.J., Nadkarni, N.M. y J.T. Longino. 1993. Longevity of fallen epiphytes in a Neotropical montane forest. *Ecology* 74: 265-269.
- Norton, D.A., Hobbs, R. J. y L. Atkins. 1995. Fragmentation, disturbance and plant distribution: mistletoes in woodland remnants in the western Australian wheat belt. *Conservation Biology* 9: 426-438.
- Sazima, M. Buzato, S. y I. Sazima. 1995. Bat pollination of *Vriesea* in Southeastern Brazil. *Bromelia* 2:29-37.
- Smith, L.B. y R.J. Downs. 1977. Tillandsioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica Monograph* 14. Part 2. Hafner Press, New York. 1492 pp.
- Winkler, M., Hülber, K., Mehlreter, K.V., García Franco, J.G., y P. Hietz. 2005. Herbivory in epiphytic bromeliads, orchids and ferns in a Mexican montane forest. *Journal of Tropical Ecology*. 21:147-154.
- Zavala-Hurtado, J.A. 1982. Estudios ecológicos en el Valle semiárido de Zapotitlán, Puebla I. Clasificación numérica de la vegetación basada en atributos binarios de presencia o ausencia de las especies. *Biotica* 7:99-120.
- Zotz, G. 1995. How fast does an epiphyte grow? *Selbyana* 16:150-154.
- Zotz, G. y J.L.Andrade. 1998. Water relations of two co-occurring epiphytic bromeliads. *Journal of Plant Physiology* 152:545-554.
- Zotz, G. y V. Thomas. 1999. How much water is the tank? Model calculations for two epiphytic bromeliads. *Annals of Botany* 83:183-192.
- Zotz, G. y P. Hietz. 2001. The physiological ecology of vascular epiphytes: current knowledge, open questions. *Journal of Experimental Botany* 52:2067-2078.
- Zotz, G., Hietz P. y G. Schmidt. 2001. Small plants, large plants: the importance of plant size for the physiological ecology of vascular epiphytes. *Journal of Experimental Botany* 52: 2051-2056.