

**MORFOANATOMÍA, HISTOQUÍMICA Y DESARROLLO POST-SEMINAL DE
SEMILLAS DE BROMELIAS (BROMELIACEAE) PRESENTES EN EL
DEPARTAMENTO DE SUCRE – COLOMBIA.**

**KESMY ISABEL LIDUEÑA PÉREZ
ADRIANA MARÍA MARTELO SOLÓRZANO**

**UNIVERSIDAD DE SUCRE
FACULTAD DE EDUCACIÓN Y CIENCIAS
PROGRAMA DE BIOLOGÍA
SINCELEJO-SUCRE**

2018

**MORFOANATOMÍA, HISTOQUÍMICA Y DESARROLLO POST-SEMINAL DE
SEMILLAS DE BROMELIAS (BROMELIACEAE) PRESENTES EN EL
DEPARTAMENTO DE SUCRE – COLOMBIA.**

**KESMY ISABEL LIDUEÑA PÉREZ
ADRIANA MARÍA MARTELO SOLÓRZANO**

Trabajo presentado como requisito para optar al título de Biólogo

**Director (a):
JENNY PAOLA CORREDOR PRADO
Dra. En Ciencias Biológicas**

**UNIVERSIDAD DE SUCRE
FACULTAD DE EDUCACIÓN Y CIENCIAS
PROGRAMA DE BIOLOGÍA
SINCELEJO-SUCRE**

2018

“ÚNICAMENTE LOS AUTORES SON RESPONSABLES DE LAS IDEAS EXPUESTAS
EN EL PRESENTE TRABAJO”.

Artículo 30, resolución 13 de 2010.

Nota de aceptación

Jurado

Jurado

Sincelejo, noviembre 2018

DEDICATORIA

A Dios, mi guía y fortaleza, por acompañarme en cada paso que doy, sin él nada de esto sería posible.

A mis padres, mi motivación y mi ejemplo a seguir. A ellos les debo todo lo que soy, no me alcanza la vida para agradecerles.

A mis hermanos, mis compañeros de vida, por apoyarme siempre.

A Oscar (Q.E.P.D) por enseñarme tanto, siempre serás parte de mí.

A Adrii, la hermana que la vida me regaló, por ser la mejor compañía en este proceso.

Kesmy Isabel Lidueña Pérez

DEDICATORIA

Dedico este logro a Dios por siempre bendecirme, guiarme y cuidar de mí.

A mis padres Flor Solórzano y Pedro Martelo por su esfuerzo, apoyo, paciencia y amor incondicional. Mis hermanos Pedro y Andrea mis compañeros de vida, por ayudarme y apoyarme siempre que los necesito.

A Kesmy Lidueña por su gran paciencia, hermana de otra madre gracias por estar siempre conmigo.

Adriana María Martelo Solórzano.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras expresan sus más sinceros agradecimientos a Dios sobre todas las cosas, por guiarnos, darnos las fuerzas y sabiduría necesarias en todo momento.

A **nuestros padres**, por su amor y apoyo incondicional.

A **Jenny Corredor**, quien aparte de ser la mejor tutora, se convirtió en una amiga y un ejemplo a seguir, gracias por guiarnos en este proceso y confiar en nosotras, solo esperamos no haberle fallado en nada.

A **Eliana Pérez**, la mejor de todas las amigas, la que siempre está ahí, gracias, infinitas gracias, por acompañarnos y apoyarnos en todo.

A **Rocío Payares** por su constante compañía y apoyo en campo.

A todos nuestros amigos con quienes compartimos siempre.

A la Universidad de Sucre y a todos los profesores que hicieron parte de nuestra formación como Biólogas.

¡A todos, muchas gracias!

TABLA DE CONTENIDO

Pág.

RESUMEN.....	13
ABSTRACT	14
1. INTRODUCCIÓN	14
2. OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo general	17
2.2 Objetivos específicos	17
3. MARCO DE ANTECEDENTES	18
4. MARCO TEÓRICO–CONCEPTUAL.....	21
4.1 La semilla.....	21
4.1.1 Tegumento	22
4.1.2 Endospermo.....	22
4.1.3 Embrión	23
4.2 Germinación	24
4.2.1 Imbibición y reactivación del metabolismo	25
4.2.2 Tipos de germinación.....	26
4.3 Estudios de semillas en la taxonomía	27
4.4 Histoquímica vegetal.....	28
5. MATERIALES Y MÉTODOS	30
5.1 Área de estudio.....	30
5.2 Fase de campo	31
a. Fase de laboratorio.....	31
5.3.1 Herborización del material	31
5.3.2 Caracterización morfológica	32
5.3.3 Caracterización anatómica e histoquímica.....	33
5.3.4 Desarrollo post-seminal	34
5.3.5 Análisis estadístico	36
6. RESULTADOS.....	37
6.1 Bromelias presentes en el departamento de Sucre.....	37
6.2 Caracterización morfológica de frutos y semilla.....	40
6.3 Caracterización anatómica e histoquímica de semillas	49

6.4 Desarrollo post-seminal.....	62
7. DISCUSIÓN	69
7.1 Bromelias presentes en el departamento de Sucre.....	69
7.2 Caracterización morfológica de frutos y semilla.....	71
7.3 Caracterización anatómica e histoquímica de semillas	72
7.4 Desarrollo post-seminal.....	74
8. CONCLUSIONES.....	79
9. RECOMENDACIONES	81
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82
Anexo 1.....	101
Anexo 2.....	109

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura. 1: Materiales de laboratorio.....	36
Figura. 2: Bromelias encontradas en el departamento de Sucre.	38
Figura. 3: Géneros de la familia Bromeliaceae encontrados en el departamento de Sucre. ...	39
Figura. 4: Aspecto morfológico de frutos y semillas de <i>Ananas comosus</i> var. <i>ananassoides</i>	42
Figura. 5: Aspecto morfológico de frutos y semillas de <i>Bromelia karatas</i>	43
Figura. 6: Aspecto morfológico de frutos y semillas de <i>Tillandsia elongata</i>	45
Figura. 7: Aspecto morfológico de frutos y semillas de <i>Tillandsia flexuosa</i>	46
Figura. 8: Aspecto morfológico de frutos y semillas de <i>Tillandsia recurvata</i>	47
Figura. 9: Aspecto morfológico de frutos y semillas de <i>Tillandsia usneoides</i>	48
Figura. 10: Cortes anatómicos en sección longitudinal y pruebas histoquímicas en semillas de <i>Ananas comosus</i> var. <i>ananassoides</i>	51
Figura. 11: Cortes anatómicos en sección longitudinal y pruebas histoquímicas en semillas de <i>Bromelia karatas</i>	53
Figura. 12: Cortes anatómicos en sección longitudinal y pruebas histoquímicas en semillas de <i>Tillandsia elongata</i>	55
Figura. 13: Cortes anatómicos en sección longitudinal y pruebas histoquímicas en semillas de <i>Tillandsia flexuosa</i>	57
Figura. 14: Cortes anatómicos en sección longitudinal y pruebas histoquímicas en semillas de <i>Tillandsia recurvata</i>	59

Figura. 15: Cortes anatómicos en sección longitudinal y pruebas histoquímicas en semillas de <i>Tillandsia usneoides</i>	61
Figura. 16: Desarrollo post-seminal y formación de plántulas en <i>Bromelia karatas</i> . .	63
Figura. 17: Desarrollo post-seminal y formación de plántulas en <i>Tillandsia elongata</i>	65
Figura. 18: Desarrollo post-seminal y formación de plántulas en <i>Tillandsia flexuosa</i>	67
Figura. 19: Desarrollo post-seminal en <i>Tillandsia recurvata</i> ..	68

LISTA DE TABLAS

Pág.

Tabla 1: Bromeliaceae en los municipios evaluados del departamento de Sucre.....	39
Tabla 2: Datos biométricos y número de semillas por fruto de seis especies de Bromeliaceae..	41
Tabla 3: Datos biométricos de semillas de seis especies de Bromeliaceae.....	43
Tabla 4: Porcentaje de germinación, porcentaje de plántulas e IVG de especies de Bromelias..	64

RESUMEN

La familia Bromeliaceae es una de las más representativas en los bosques tropicales, y ecológicamente tiene un importante papel en el funcionamiento de los ecosistemas. A pesar de esto, esta familia es un grupo poco estudiado en el departamento de Sucre y en Colombia. Con el objetivo de caracterizar la morfoanatomía, histoquímica y desarrollo post-seminal de las semillas de bromelias presentes en este departamento, se realizaron recorridos libres en 8 municipios y se recolectaron las semillas de las especies en periodo de fructificación. En total se recolectaron 14 especies pertenecientes a 4 géneros, siendo *Tillandsia* el más representativo. En este género las semillas se caracterizan por ser fusiformes con presencia de apéndices plumosos, diferentes a las de los géneros *Ananas* y *Bromelia* que tienen semillas ovoides y subglobosas respectivamente y presentan una capa de mucílago. Anatómicamente se encontró que las especies del género *Tillandsia* presentan una zona de constricción en el embrión lo que las diferencia de los géneros *Ananas* y *Bromelia*, y que la cantidad de endospermo difiere entre las especies de *Tillandsia*. Los resultados también demostraron que los géneros *Bromelia* y *Tillandsia* se diferencian en cuanto al desarrollo post-seminal, en *Bromelia* hay presencia de raíz primaria, mientras que en *Tillandsia* la raíz está ausente y la germinación es epígea. Las caracterizaciones morfoanatómicas de las semillas y el desarrollo post-seminal realizadas en este estudio, aportan a la identificación taxonómica, y contribuye a futuros estudios ecológicos de estas especies.

Palabras claves: *Ananas*, *Bromelia*, embrión, endospermo, germinación, *Tillandsia*.

ABSTRACT

The Bromeliaceae family is one of the most representative in the tropical forest, and ecologically it has an important role in the functioning of ecosystems. In spite of that, the family is a little studied group in the department of Sucre and in Colombia. With the objective of characterizing the morphoanatomy, histochemistry, and post-seminal development of bromeliad seeds present in this department, free routes were made in 8 municipalities and the seeds of the species were collected during the fruiting period. In total, 14 species belonging to 4 genus were collected, being *Tillandsia* the most representative. In this genus, the seeds are characterized by being fusiform with presence of feathery appendages, different from those of the genus *Ananas* and *Bromelia*, which have ovoid and subglobose seeds respectively and they present a mucilage layer. Anatomically, it was found that the species of the genus *Tillandsia* present a constriction zone in the embryo what differentiates them from the genus *Ananas* and *Bromelia*, and that the amount of endosperm differs among the species of *Tillandsia*. The results also showed that the genus *Bromelia* and *Tillandsia* differ in terms of post-seminal development, in *Bromelia* there is presence of primary root, while in *Tillandsia* the root is absent and the germination is epigeous. The morpho-anatomical characterizations of the seeds and the post-seminal development carried out in this study, contribute to the taxonomic identification and also to future ecological studies of these species

Keywords: *Ananas*, *Bromelia*, embryo, endosperm, germination, *Tillandsia*

1. INTRODUCCIÓN

La familia Bromeliaceae pertenece al orden Poales (APG IV, 2016) y es exclusiva de América, excepto una especie del género *Pitcairnia* (*Pitcairnia feliciana*) que habita en el continente Africano (Smith y Downs, 1974). Las bromelias son una de las familias más diversas morfológica y ecológicamente, y representan alrededor de 3.172 especies y subespecies, distribuidas en 58 géneros (Luther, 2008). Colombia es el segundo país con mayor diversidad de bromelias, y según la base de datos del SiB (2016) cuenta con 25 géneros y 545 especies, de las cuales aproximadamente el 37% de estas son endémicas (Betancur y García, 2006). Las especies de esta familia geográficamente se encuentran distribuidas en casi todos los ecosistemas, desde zonas desérticas, áridas, bosques húmedos, zonas bajas en bosques tropicales, y en lo más alto de los páramos andinos (Betancur y García, 2006). Según sus hábitos pueden ser terrestres, epífitas, hemiepífitas o escandentes, y es posible encontrarlas abarcando diferentes altitudes que van desde el nivel del mar hasta los 4000 msnm; además, pueden resistir condiciones ambientales extremas (Smith y Downs, 1979; Betancur y García, 2006; Alvarado-Fajardo et al., 2013). La familia se caracteriza por la disposición de sus hojas en roseta, formando un tanque para el almacenamiento de agua, que les permite almacenar nutrientes y albergar muchas especies de invertebrados y pequeños anfibios (Mondragón, 2002; Betancur y García, 2006; García y Toledo, 2008), lo cual le otorga un importante papel para el funcionamiento de los ecosistemas.

Además de su función ecológica, su importancia también se ve reflejada a nivel económico, al ser una fuente directa de alimentación, siendo *Ananas comosus*, la más representativa de este grupo. Así mismo, *Bromelia magdalenae* es utilizada para la obtención

de fibra y en la industria textil; algunas especies son fuente de metabolitos secundarios, que son usados para fines farmacéuticos, y otras tienen un alto valor a nivel ornamental (Betancur y García, 2006). Según sus hábitos de crecimiento y otras características, esta familia se dividió tradicionalmente en tres subfamilias: Bromelioideae, Pitcairnioideae y Tillandsioideae (Smith y Downs, 1974, 1977, 1979), Sin embargo, Givnish et al., (2007), reorganizaron la familia en ocho subfamilias (Brocchinioideae, Bromelioideae, Hechtioideae, Lindmanioideae, Navioideae, Pitcairnioideae, Puyoideae y Tillandsioideae). Por tanto, esta reorganización de Bromeliaceae hace necesario que nuevos estudios contribuyan con información sobre características morfológicas más detalladas que mejoren las circunscripciones a nivel intrafamiliar e intragenérico (Palací et al., 2004; Barfuss et al., 2005; Givnish et al., 2007), y de esta manera, se proporcionen más herramientas que faciliten la identificación de las especies, las cuales en algunos casos llegan a ser insuficientes (Aguirre-Santoro y Betancur, 2008).

Esta familia presenta una variada morfología, por ejemplo, considerando su clasificación inicial, en Tillandsioideae las hojas siempre son de margen entero, mientras que en Pitcairnioideae y Bromelioideae las hojas generalmente son espinosas. A nivel general, las hojas de las bromelias se disponen en forma de roseta, abrazando al tallo que por lo general es reducido, formando así el “tanque” que las caracteriza (Kitching, 2000; Greeney, 2001). La inflorescencia generalmente es una sola por planta, y está acompañada de brácteas que habitualmente son de colores muy llamativos (Betancur y García, 2006). El fruto normalmente es una cápsula septicida tricarpelar, que puede ser o no dehiscente y contiene numerosas semillas, las cuales pueden ser achatadas o globosas, provistas o no de apéndices; que son aliformes o plumosos, laterales o apicales. Las semillas poseen un embrión pequeño,

generalmente situado lateralmente, en la base de un abundante endospermo amiláceo (Wanderley y Martins, 2007).

La posición, el tamaño y función del cotiledón en la semilla, son características que están relacionadas con la morfología inicial de las plántulas y caracterizan los tipos morfofuncionales, al igual que el material de reserva que poseen las semillas (Garwood 1996). Basado en esto, el conocimiento de la morfo-anatomía y el seguimiento post-seminal, facilita la diferenciación entre grupos taxonómicos. De acuerdo con Gross (1988), las semillas al ser menos susceptibles a los cambios ambientales pueden proporcionar mejores características para la diagnosis. En este sentido, estudios sobre la caracterización detallada de las semillas, germinación y morfología de las primeras etapas de las plántulas de bromelias, han proporcionado información importante para la circunscripción taxonómica, siendo que, en los últimos años han aumentado los trabajos enfocados en estos aspectos (Pereira, 1988; Palací et al., 2004; Scatena et al., 2006; Mora et al., 2007; Pereira et al., 2008; Ferreira et al., 2009; Pereira et al., 2009; Pereira et al., 2010; Silva y Scatena, 2011; Magalhães y Mariath, 2012; Sosa-Luría et al., 2012). No obstante, considerando el número de especies que pertenecen a la familia Bromeliaceae, los estudios que involucran descripciones morfo-anatómicas y de germinación de semillas siguen siendo muy escasos, y para las especies presentes en Colombia, dichos estudios no son conocidos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Caracterizar la morfoanatomía, histoquímica y desarrollo post-seminal de las semillas de bromelias presentes en el departamento de Sucre, con el fin de identificar nuevos caracteres taxonómicos para la familia Bromeliaceae.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Colectar y determinar las bromelias presentes en el departamento de Sucre.
- ✓ Caracterizar la morfología de frutos y semillas de bromelias presentes en el departamento de Sucre.
- ✓ Describir la anatomía y determinar mediante técnicas histoquímicas, la presencia de compuestos estructurales, de reserva y del metabolismo secundario en las semillas de bromelias presentes en el departamento de Sucre.
- ✓ Evaluar el potencial germinativo y describir el desarrollo post-seminal de las bromelias presentes en el departamento de Sucre.

3. MARCO DE ANTECEDENTES

Brasil, considerado el país con mayor diversidad de bromelias, ha desarrollado una gran cantidad de trabajos relacionados con diferentes aspectos biológicos, como su diversidad, distribución geográfica, biología reproductiva, fisiología, fenología y conservación (Siqueira y Machado, 2001; Kaehler et al., 2005; Machado y Semir 2006; Lemos y Maciel 2008; Rodrigues y Lemos 2008; Martinelli et al., 2008; Rogalski et al., 2009; Bonnet et al., 2010; Negrelle et al., 2012; entre otros). Otros autores han enfocado sus estudios en la morfología de las semillas y el desarrollo post-seminal de bromelias. Por ejemplo, Scatena et al., (2006) analizaron especies de *Tillandsia* en el sur de Brasil; Pereira et al., (2008) revisaron seis especies, distribuidas en las tres subfamilias tradicionalmente reconocidas; Pereira et al., (2009; 2010) evaluaron el comportamiento germinativo de especies epífitas y rupícolas, y los aspectos morfológicos de la semilla y germinación de *Pitcairnia albiflos*; Silva y Scatena (2011) caracterizaron varias especies de bromelias presentes en la Amazonia brasileña; Ferreira et al., (2009), caracterizaron la especie *Dyckia goehringii*; Corredor et al., (2014), la especie *Vriesea friburgensis* y Rios et al., (2016), la especie *Aechmea costantinii*. Pereira (1988), analizó varias especies de bromelias, encontrando diferentes tipos de germinación y buenos caracteres de diferenciación entre géneros y subfamilias. Finalmente, se destaca el trabajo realizado por Magalhães y Mariath (2012) sobre morfoanatomía de la semilla y su relevancia sistemática en Tillandsioideae. En este país también se han realizado varias investigaciones relacionadas con la histoquímica en bromelias en otros órganos reproductivos (Ferreria, 2013) y vegetativos (Proença y Graças 2007, Alin y Milaneze, 2008,

Ferreira 2013, Krahl et al., 2013, Olivera et al., 2013; Belotto et al., 2014 y Nunes y Pires, 2014).

Investigadores de otros países también han realizado trabajos que tratan sobre las semillas de las bromelias. Morra et al., (2002) estudiaron la ontogenia y anatomía de semilla y fruto en *Tillandsia tricholepis*; Vadillo et al., (2004), Winkler et al., (2005) y Sosa-Luría et al., (2012) estudiaron la viabilidad y germinación de semillas de algunos géneros de bromelias; Palací et al., (2004) estudiaron la morfología de las semillas y de sus apéndices plumosos para delimitaciones taxonómicas del género *Catopsis*; Cecchi-Fiordi et al., (1996) evaluaron los aspectos citológicos de los embriones de especies de *Tillandsia*; y Cecchi-Fiordi et al., (2001) caracterizaron las reservas en las semillas de *Tillandsia* y su uso en la germinación.

En Colombia, la familia Bromeliaceae ha sido un grupo poco estudiado (Alvarado et al., 2013). Los estudios están relacionados principalmente con la diversidad y distribución de la familia (Betancur, 1992; Betancur y Jaramillo, 1998; Isaza et al., 2004 y Alvarado et al., 2013), la sinopsis de algunos géneros (Betancur y Callejas, 1997; Aguirre-Santoro y Betancur, 2008), y publicaciones con la descripción de nuevas especies (Betancur, 1991; Betancur, 1995; Betancur y Salinas, 2006; Izasa y Betancur, 2009; Aguirre-Santoro y Betancur, 2011a; Aguirre-Santoro y Betancur, 2011b; Aguirre-Santoro et al., 2015; Betancur y Jiménez-Escobar, 2015). Otros autores como Ospina-Bautista et al., (2004; 2008) centraron sus estudios en la diversidad de fauna asociada a las bromelias. Mora et al., (2007), evaluaron la dinámica de la germinación, latencia de semillas y reclutamiento de plántulas en *Puya cryptantha* y *P. trianae*; Calderón et al., (2011), basaron su investigación en morfogénesis *in vitro* a partir de yemas apicales y bases de hojas a partir de semillas de dos especies de bromelias; y Pico (2016) quien realizó conservación *ex situ* usando semillas de *Puya loca*

una bromelia de páramo. En Colombia no se conocen estudios detallados acerca de la morfología, anatomía y desarrollo post-seminal de semillas de la familia Bromeliaceae. Así mismo, para el departamento de Sucre, no fueron encontrados registros bibliográficos acerca de la distribución de estas especies.

4. MARCO TEÓRICO–CONCEPTUAL

4.1 La semilla

Las semillas son consideradas como la principal forma de propagar especies y de propiciar la supervivencia de las plantas ante condiciones adversas. Dependiendo del tipo de semilla y del agente dispersor, las especies pueden dispersarse de una región a otra, por lo tanto, con frecuencia la germinación y el crecimiento de la plántula ocurre en lugares distantes de la planta madre (Souza y Paoli, 2009).

La semilla es un conjunto formado por un esporofito joven o embrión, un tejido de reserva o endospermo y un envoltorio protector (angiospermas) (Beltrati y Paoli, 2013). Se puede producir por reproducción sexual, garantizando la diversidad genética de una población, o por reproducción asexual que da como resultados clones de uniformidad genética (Sliwinska y Bewley, 2014). En las Angiospermas, las semillas que son producto de la reproducción sexual son el resultado de la doble fertilización, que involucra dos gametos masculinos, por lo que se le conoce como doble fertilización, en el que uno de los gametos masculinos se une con la ovocélula, lo cual origina al cigoto diploide y el segundo se une con los dos núcleos polares del saco embrionario, dando como resultado al endospermo triploide (Beltrati y Paoli, 2013). El embrión que se desarrolla está rodeado o no, por un almacén de alimentos (endospermo) y una cubierta protectora (Black et al., 2006).

4.1.1 Tegumento

Después de la doble fecundación los dos tegumentos del óvulo sufren varias alteraciones, el tegumento externo se diferencia en la testa y el tegumento interno en el tegmen. La composición química de las paredes de los tegumentos también puede ser modificada, pudiendo ocurrir cutinización, suberificación o lignificación de las paredes celulares (Souza y Paoli 2009). La testa es un tejido materno que rodea al embrión, la cual se encarga de proteger las estructuras internas de factores bióticos como la desecación o daños mecánicos, favorece el intercambio de gases y la absorción de agua, también puede conducir nutrientes para el embrión y el endospermo durante el desarrollo, y ser un medio para la dispersión de semillas (Black et al., 2006); influye en la longevidad, viabilidad, germinabilidad, y puede acumular grandes cantidades de compuestos, como mucílagos, compuestos fenólicos o pigmentos (Moise et al., 2005). La segunda cubierta, el tegmen, es la película que cubre inmediatamente a la semilla (Weyler, 1843). La función de estas capas de células no solo es la protección mecánica, también puede ser impermeabilización, protección contra microorganismos y almacenamiento de agua (Beltrati y Paoli, 2013).

4.1.2 Endospermo

En la mayoría de las semillas el embrión está rodeado generalmente por un tejido de reserva o endospermo, que sirve como fuente de alimentación para el embrión y el desarrollo de la plántula (Souza y Paoli, 2009), y puede permanecer en la semilla madura, o ser consumido por el embrión en el desarrollo. El tipo de reserva y la consistencia del tejido son variables, sus células tienen finas paredes y las sustancias de reservas se almacenan en

su interior (Beltrati y Paoli, 2013). Estas reservas son de vital importancia para el adecuado crecimiento de la plántula, dado que le proporcionan nutrientes que respaldan sus actividades y requerimientos de energía, hasta que sean autotróficas. Las principales reservas son los carbohidratos, aceites y proteínas, siendo el almidón el más prevalente de los carbohidratos en las semillas (Black et al., 2006).

4.1.3 Embrión

El embrión en las plantas monocotiledóneas tiene un cotiledón, un eje embrionario, radícula, hipocótilo y plúmula (Black et al., 2006). Generalmente en un embrión la radícula no se distingue del hipocótilo, formando así un conjunto denominado eje hipocótilo-radicular (Souza y Paoli, 2009). En la radícula está el meristemo de la raíz y una vez completada la germinación da lugar a la raíz embrionaria. En las monocotiledóneas más avanzadas, la raíz primaria se desarrolla tardíamente y las raíces laterales adventicias se forman donde la raíz primaria es poco desarrollada o ausente (Beltrati y Paoli, 2013). El hipocótilo tiene forma de tallo y está delimitado por el cotiledón en el extremo proximal y por la radícula en el extremo basal. El cotiledón es la primera hoja de la planta que se forma en el embrión, puede tener función fotosintética (Beltrati y Paoli, 2013), servir como órgano de almacenamiento de reservas y/o puede ser aplanado en el caso de las semillas con endospermo (Bewley y Black, 1994).

Las semillas también pueden presentar estructuras especializadas que ayudan en el proceso de dispersión (Sert et al., 2009). En Bromeliaceae la dispersión de semillas es una característica muy diversa entre especies, algunas semillas poseen apéndices plumosos, que facilitan la dispersión por el viento, y la fijación en troncos y ramas de árboles (Valencia-

Díaz et al, 2007, Silva y Scatena, 2011). Así mismo, la presencia de semillas con apéndices pegajosos, o con mucilago, facilita la dispersión por medio del agua, de pájaros, insectos y mamíferos que se alimentan de los frutos (Silva y Scatena, 2011).

4.2 Germinación

La germinación da inicio con la entrada de agua en la semilla (imbibición), y finaliza cuando una parte de esta (eje embrionario en dicotiledóneas o radícula en monocotiledóneas y gimnospermas) atraviesa la cubierta seminal. En condiciones de laboratorio, la posterior rotura de las cubiertas seminales por la radícula es el hecho que se utiliza para considerar que la germinación ha tenido lugar. Durante el proceso, hay absorción de agua, síntesis de macromoléculas, respiración y elongación celular. La finalidad de este proceso es el aumento del metabolismo en la semilla y el crecimiento del embrión (Bewley y Black, 1985; Valencia-Díaz et al., 2007, Doria, 2010).

La germinación es una etapa fundamental en la vida de las plantas, debido a que, de esta depende la distribución, propagación y supervivencia de las especies, y la dinámica de las poblaciones (Valencia-Díaz et al., 2007; Sert et al., 2009). La temperatura está frecuentemente asociada con el proceso de germinación por afectar el porcentaje de germinación, la tasa diaria de germinación, la tasa de absorción de agua, la velocidad de las reacciones enzimáticas y el transporte de las sustancias de reserva (Probert 2010). Con referencia a los requerimientos de luz necesarios para que se lleva a cabo el proceso de germinación, las semillas se clasifican en tres grupos. El primero corresponde a las semillas

fotoblásticas positivas, ellas germinan como respuesta a la luz, en el segundo grupo están las fotoblásticas negativas, en el que las semillas sólo germinan en oscuridad y finalmente, el tercer grupo donde están las semillas independientes a la luz, germinan bajo condiciones de luz u oscuridad (Takaki 2001).

4.2.1 Imbibición y reactivación del metabolismo

El agua estimula la rehidratación de los tejidos de la semilla y del eje embrionario, reactiva y promueve la formación de nuevas enzimas, que inducen el incremento del metabolismo energético y la movilización y asimilación de reservas, estimulando así la división, elongación celular y desarrollo del embrión. También el oxígeno es importante en el proceso de germinación, puesto que este interviene en las reacciones de oxidación (Sert et al., 2009; Doria, 2010). Las sustancias de las reservas que se encuentran en el endospermo o en los cotiledones se descomponen, y los productos solubles de este proceso se desplazan al eje embrionario, lo que permite la reanudación del crecimiento. Por lo cual, cualquier acumulación de sustancias dentro del tejido de almacenamiento, así como los daños físicos que pueden resultar en la pérdida de este tejido, deteriorarán la calidad de la semilla, lo cual trae consecuencias negativas para la germinación (Ferreira y Borghetti, 2004; Marcos Filho, 2005; Taiz y Zeiger, 2009). Por lo tanto, la cantidad de reservas nutricionales en semillas afecta significativamente la germinación.

4.2.2 Tipos de germinación

En la mayoría de las semillas la germinación se da por la ruptura del tegumento, en la región próxima al micrópilo. En algunos casos, el tegumento seminal se rompe por medio de ranuras, formando dos o más valvas, y en otros, la germinación ocurre con la formación de un opérculo (Sert et al., 2009). De acuerdo con los aspectos morfofisiológicos, la germinación puede ser clasificada en epígea e hipógea. La germinación epígea se caracteriza por la elongación del hipocótilo y esto permite la elevación de los cotiledones sobre el sustrato, los cuales actúan como fuente nutricional y de carbono para el crecimiento y mantenimiento de la plántula. Posteriormente los cotiledones obtienen función fotosintética y actúan como si fueran hojas (Sert et al., 2009; Doria, 2010). En la germinación hipógea los cotiledones permanecen enterrados, el epicótilo se alarga con la emergencia de la parte aérea, la plúmula crece y es elevada sobre el sustrato; apareciendo las primeras hojas verdaderas, que son los primeros órganos fotosintetizadores de la plántula. Las reservas presentes en los cotiledones son utilizadas para el desarrollo de la plántula hasta ser agotadas (Sert et al., 2009; Doria, 2010).

Adicionalmente, es importante considerar que los tipos de plántulas representan una adaptación funcional al medio ambiente y están asociados a los factores ecológicos, como forma de vida de la planta, capacidad de dispersión de las semillas y estrategia de regeneración (Garwood 1996; Pereira et al., 2008). Las plántulas pueden ser criptocotiledonares o fanerocotiledonares. En las plántulas criptocotiledonares, los cotiledones se mantienen envueltos por el tegumento seminal, parte del cotiledón foliáceo emerge de los restos seminales y parte del cotiledón haustorial, permanece en el interior del

tegumento y mantiene contacto con el tejido de reserva (Souza et al., 2009); mientras que en las plántulas fanerocotiledonares, los cotiledones son liberados del tegumento seminal (Souza et al., 2009).

4.3 Estudios de semillas en la taxonomía

Los trabajos que se enfocan en datos anatómicos y morfológicos buscan una mejor delimitación de especies o la resolución de relaciones donde la sistemática molecular no proporciona datos concluyentes. En este sentido, conocer la morfología externa e interna de la semilla es importante para la identificación de las especies. El estudio morfológico de la semilla facilita una gran cantidad de caracteres taxonómicos y filogenéticos, por lo que los caracteres externos son más utilizados, aunque los internos son más confiables (Sobrinho y Siquiera, 2008). Según Forbis et al. (2002) y Castellani et al. (2008), la estructura interna de las semillas, en particular el embrión, tienen implicaciones significativas en la dormancia y germinación.

Gunn (1981) y Gross (1988) afirman que las semillas son una variable segura para la identificación de especies, debido a que sus características tanto externas como internas no varían con las condiciones ambientales. Las semillas de las especies difieren morfológicamente en cuanto a tamaño, forma, color, y aspecto, estas pueden ser globosas, elipsoides, ovoides, reniformes, cilíndricas, lenticulares, angulosas o comprimidas, con un tegumento liso, más o menos cutinizado o mucilaginoso y presentar cicatrices o apéndices (Beltrati, 1992; Barroso, 1999) y anatómicamente son diferentes por el tamaño y ubicación del embrión, presencia o ausencia de endospermo y cantidad y calidad del material de reserva (Lawrence, 1973, Gunn, 1981). Estas informaciones son muy útiles en la definición de las

relaciones filogenéticas (Corner, 1976; Stuessy, 1991; Ferreira et al, 2001). En este sentido, el conocimiento de la morfología y las estructuras es fundamental en la identificación de familias, géneros y especies (Silva et al., 2008). También es importante para facilitar estudios de banco de semillas del suelo, para ayudar en la identificación de especies en investigaciones de regeneración natural de áreas degradadas (Araújo-Neto et al., 2002) y de viabilidad y métodos de siembra (Kuniyoshi, 1983).

4.4 Histoquímica vegetal

La histoquímica es un método que se utiliza para determinar, caracterizar y localizar constituyentes celulares, utilizando métodos químicos que se basan en reacciones bioquímicas específicas. La técnica histoquímica vegetal surge como un recurso para la identificación, caracterización y localización de compuestos existentes en las plantas, y está basada en el uso de reactivos cito y químico histológicos (Monte, 2009; Fernandes, 2013). Sus métodos se basan en reacciones cromáticas usadas para el reconocimiento de la naturaleza química de las membranas y del contenido celular (Costa y Proença Da Cunha, 2000), por tanto, se considera un método de análisis cualitativo de los componentes celulares, como proteínas, lípidos y elementos iónicos presentes en el contenido celular (Gersbach et al., 2001; Dores, 2007).

El conocimiento de las características histoquímicas de los órganos de las plantas es de fundamental importancia en las decisiones agronómicas (Reis y Mariot, 2001) y pueden tener un alto valor a nivel taxonómico, representar adaptaciones ecológicas e identificar características fitotécnicas relevantes (Fernandes, 2013). Por ejemplo, la composición química del tegumento que está relacionada con la dormancia externa de las semillas puede

ser un carácter diferenciativo entre especies (Briggs et al., 2005; Bewley et al., 2013; Fernandes, 2013). El tegumento está constituido generalmente por carbohidratos, como celulosa, hemicelulosas y pectinas, también por compuestos fenólicos (lignina). En el endospermo, en el embrión y en otros tejidos seminales, se pueden acumular sustancias orgánicas de reserva, como lípidos, proteínas y carbohidratos. Los lípidos se encuentran en cuerpos lipídicos y son los triacilgliceroles, y las proteínas localizadas en cuerpos proteicos, como las globulinas y prolaminas. Los carbohidratos como el almidón, localizados en amiloplastos, las hemicelulosas, constituyentes de la pared celular, además de sacarosa y oligosacáridos de la serie rafinósica, estos últimos localizados en las vacuolas (Ventrella et al., 2013).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Área de estudio

El departamento de Sucre es un territorio con una diversidad ecológica, compuesta por un sistema costero de ambiente seco y un sistema húmedo de ciénagas y caños en la cuenca de los ríos San Jorge y Cauca. Se localiza en la llanura del Caribe colombiano, al norte de las cordilleras Central y Occidental, tiene una extensión de 10.364 kilómetros cuadrados, limita al norte, al este con el departamento de Bolívar, al sur con los departamentos de Antioquia y Córdoba, al oeste con el departamento de Córdoba y al noreste con el mar Caribe. Su clima es cálido, con temperaturas que oscilan entre 27 °C y 30°C, la precipitación anual es de 1.300 mm y la humedad relativa del 87% (Aguilera, 2005; CarSucre, 2014). El departamento de Sucre está conformado por 26 municipios, agrupados en cinco subregiones fisiográficas: Golfo de Morrosquillo, Montes de María, Sabanas, San Jorge y La Mojana.

Para la realización de este trabajo el material vegetal fue recolectado en ocho municipios del departamento: Colosó, Chalán, Morroa, Ovejas y Sincelejo, ubicados en la subregión Montes de María; Galeras en la subregión Sabanas; San Onofre y Tolú viejo en el Golfo de Morrosquillo. Los Montes de María corresponden a una zona de bosque seco tropical, su paisaje característico es la montaña y está ubicada en la parte nororiental del departamento, presenta temperaturas relativamente constantes y precipitaciones entre 1000 y 2000 mm al año, con un régimen de lluvia bimodal y la humedad relativa es de 77%. Las Sábanas están situadas en la parte central de departamento y está formada por numerosas sierras y colinas; el clima es característico de las zonas de bosque seco tropical, hay rastrojos y extensas áreas de pastizales, la precipitación fluctúa entre 990 y 1.275 mm promedio anual y la humedad

relativa es del 80% en promedio. El Golfo del Morrosquillo se ubica al norte del departamento y esta bordeada por las playas del golfo de Morrosquillo. Es una zona de bosque seco tropical, y porciones de sabanas antrópicas de lomerío y de montañas. Además de, presentar ecosistemas de manglar y lagunas costeras. Presenta diferencias en sus variables climáticas, las precipitaciones anuales pueden ser inferiores a 900 mm, y en algunos casos superior a 1.200 mm. La humedad relativa es del 77% (Aguilera, 2005).

5.2 Fase de campo

En cada municipio la ubicación de las especies pertenecientes a la familia Bromeliaceae, se realizó mediante recorridos libres con el mismo esfuerzo de muestreo. De los individuos que se encontraban en periodo de fructificación, se recolectaron frutos maduros. Las especies que no estaban en su periodo reproductivo fueron registradas para hacer un seguimiento de sus estados fenológicos. Adicionalmente, se hicieron registros fotográficos de los individuos en campo, se registraron las coordenadas geográficas y se recolectaron ejemplares para su herborización.

a. Fase de laboratorio

5.3.1 Herborización del material

El material vegetal fue llevado al laboratorio de Biología de la Universidad de Sucre donde fueron secados usando prensas de madera en una estufa a 60°C. Posteriormente la identificación taxonómica de los especímenes recolectados se realizó usando las claves taxonómicas de Espejo-Serna et al., (2005), Wanderley y Martins (2007), Aguirre-Santoro y

Betancur (2008), Espejo-Serna et al., (2010) y Alvarado- Fajardo et al., (2013). Adicionalmente, se revisó la base de datos Tropicos (<http://www.tropicos.org>), las colecciones en línea del herbario de la Universidad Nacional de Colombia (<http://www.biovirtual.unal.edu.co/es/>), del herbario del Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis (<http://colecciones.jbb.gov.co/herbario/especimen/simple>), del Royal Botanic Gardens Kew (<https://www.kew.org/science/collections/herbarium>) y The Field Museum (<https://plantidtools.fieldmuseum.org/en/rrc>). Finalmente, el material se depositó en el herbario de la Universidad de Sucre (HEUS).

5.3.2 Caracterización morfológica

Fueron seleccionados 30 frutos de cada especie, obtenidos de por lo menos tres individuos diferentes. Se describió su forma, color, medidas de largo y ancho, usando un calibrador digital. Posteriormente, las semillas fueron separadas del fruto manualmente registrando el número total de semillas por fruto. Luego, se seleccionaron 30 semillas y se describió la forma y color, y se tomaron medidas de largo y ancho usando un calibrador digital.

El registro de los frutos y semillas se hizo mediante ilustraciones, y los datos tomados fueron tabulados en formatos individuales para cada especie. Finalmente, el material se depositó en bolsas de papel debidamente rotuladas y se conservaron a una temperatura de 4°C hasta el momento de la caracterización anatómica.

5.3.3 Caracterización anatómica e histoquímica

Las semillas fueron sometidas a hidratación durante 24 horas y luego se fijaron en FAA (Formol: Alcohol: Ácido acético) por 24 horas. Seguidamente, se deshidrataron en una serie etílica creciente hasta etanol absoluto (Johansen, 1940); comenzando a una concentración de 80%, con dos repeticiones por cada alcohol e intervalos de tiempo de 30 minutos (Sandoval, 2005). Posteriormente, se procedió con un proceso de diafanización, introduciendo las semillas dos veces en xilol (Johansen, 1940) por períodos de 30 minutos.

Las semillas fueron sometidas a un proceso de infiltración o inclusión, en el que se usó parafina. Para esto, las semillas se dejaron en una solución de xilol-parafina en concentración [1:1], durante 12 horas a 60°C. Luego, se pasaron por tres repeticiones de parafina líquida a una temperatura de 60°C durante 4 horas. Finalmente, se vertió la parafina pura en pequeñas cajas de papel con las semillas dispuestas de forma vertical y horizontal. Se usó una placa refrigeradora digital PR 10 D Lupetec, para facilitar la solidificación de los bloques de parafina, los cuales se pegaron en pequeños cubos de madera debidamente rotulados con la numeración establecida para cada una de las especies.

Los cortes se hicieron con un micrótopo rotativo MRP 2015 Lupetec (Fig. 1A), con un grosor de 10 μm , los cuales se depositaron en un baño de flotación con agua gelatinizada (Fig. 1B), de donde fueron tomados con láminas portaobjetos y después colocados en la estufa a 50°C por 40 minutos. Luego se desparafinaron en xilol con dos repeticiones de 10 minutos. Posteriormente se realizaron tinciones siguiendo los protocolos de cada uno de los colorantes.

Se usó Azul de Toluidina -ATO- (O'Brien et al. 1964) para detectar celulosa, compuestos fenólicos y pectinas; Reactivo de Schiff/ Ácido Periódico -PAS- (O'Brien y McCully, 1981) para la identificación de polisacáridos neutros; Lugol (Johansen, 1940) para detectar la presencia de almidón; Azul de Coomassie (Fisher, 1968) para detectar proteínas; Rojo de Rutenio (Johansen, 1940) para pectinas y Cloruro Férrico (Johansen, 1940) para compuestos fenólicos. Finalmente, las láminas montadas se sellaron con entellan. Por otro lado, también se realizaron cortes en material fresco, en el que se usó Sudán III (Pearse, 1972) para la identificación de lípidos, y Floroglucina Ácida (Johansen, 1940) para detectar la presencia de lignina. Las secciones realizadas en las semillas permitieron determinar el porcentaje de la semilla ocupado por el embrión y el endospermo.

Todas las láminas se observaron en un microscopio óptico Labomed Lx 400 y se realizó un registro fotográfico de las imágenes obtenidas.

El protocolo para la infiltración del material en parafina, preparación de colorantes y procedimiento para las tinciones se encuentra en el anexo 1. Estas informaciones se organizaron en un documento como “guía práctica”, que estará disponible en el laboratorio para futuros trabajos que usen esta técnica.

5.3.4 Desarrollo post-seminal

Para las pruebas de germinación, se seleccionaron 100 semillas de cada especie y se distribuyeron en cuatro repeticiones de 25 semillas; estas fueron colocadas en cajas de petri sobre papel filtro humedecido con agua destilada, y se mantuvieron en un germinador a 30°C, con fotoperiodos de 12 horas, utilizando lámparas fluorescentes (Fig. 1C, D). Previo a esto,

las semillas habían sido sometidas a un proceso de desinfección con lavados en alcohol al 70%, hipoclorito de sodio al 1% y agua destilada.

El material fue observado diariamente, y se evaluó el porcentaje de germinación, el porcentaje de plántulas nuevas y el índice de velocidad de germinación (IVG) calculado de acuerdo a Maguire (1962). El criterio para definir la germinación fue la emergencia de 1 mm de la raíz primaria (Pereira et al., 2008) y para definir el estado de plántula fueron el crecimiento de la primera hoja y la aparición de la segunda hoja (Pereira et al., 2008).



Figura. 1: Materiales de laboratorio. A: Micrótopo. B: Baño de flotación. C: Germinador. D: Germinador abierto.

5.3.5 Análisis estadístico

Los datos biométricos de frutos y semillas, los porcentajes de germinación y formación de plántulas y el IVG fueron sometidos a un análisis de varianza y las medias comparadas por el test de Tukey al 5% de significancia. Los análisis estadísticos se realizaron con el software R v.3.5.1.

6. RESULTADOS

6.1 Bromelias presentes en el departamento de Sucre

En los municipios evaluados del departamento de Sucre, se registró un total de 14 especies de la familia Bromeliaceae distribuidas en 4 géneros (Fig. 2). *Tillandsia* de la subfamilia Tillandsioideae y *Aechmea*, *Ananas* y *Bromelia* de la subfamilia Bromelioideae. El género *Tillandsia* fue el más diverso con 8 especies, mientras que el género *Aechmea* presentó apenas una única especie (Fig. 3).

De las 14 especies encontradas, *Aechmea bracteata* (Sw.) Griseb, *Ananas* sp, *Bromelia pinguin* L., *Tillandsia fasciculata* Sw. y *Tillandsia* sp. fueron exclusivas del municipio de Chalán, y *Bromelia chrysantha* Jacq. del municipio de Tolú Viejo; mientras que, la especie *Tillandsia flexuosa* (Baker) Mez, fue la única presente en todos los puntos de muestreo (Tabla 1).

Chalán fue el municipio con mayor presencia de bromelias con 9 especies distribuidas en 4 géneros, seguido de Ovejas con 6 especies en 2 géneros; en Tolú viejo y Galeras se encontraron 4 especies en 2 géneros, en Sincelejo y Colosó 3 especies pertenecientes al género *Tillandsia* y por último en Morroa y San Onofre 2 especies del género *Tillandsia* (Tabla 1).



Figura. 2: Bromelias encontradas en el departamento de Sucre. A) *Aechmea bracteata*. B) *Ananas comosus* var. *ananassoides*. C) *Ananas* sp. D) *Bromelia chrysantha*. E) *Bromelia karatas*. F) *Bromelia pinguin*. G) *Tillandsia balbisiana*. H) *Tillandsia usneoides*. I) *Tillandsia fasciculata*. J) *Tillandsia juncea*. K) *Tillandsia elongata*. L) *Tillandsia recurvata*. M). *Tillandsia flexuosa*. N) *Tillandsia* sp. Fuente: Autoras; Iris Payares.

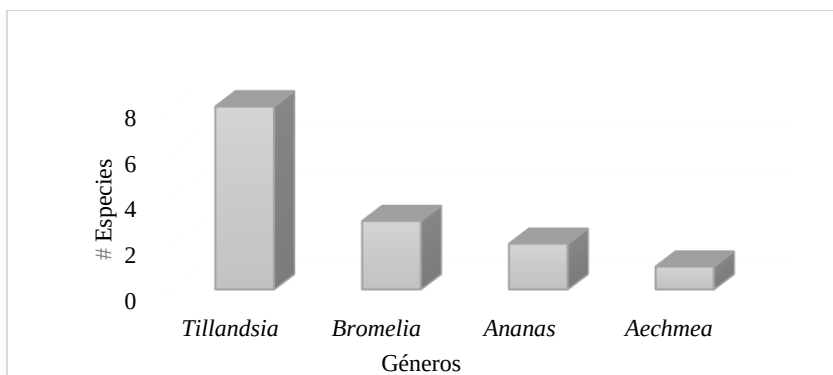


Figura. 3: Géneros de la familia Bromeliaceae encontrados en el departamento de Sucre.

Tabla 1: Bromeliaceae en los municipios evaluados del departamento de Sucre. x: Presencia; -: Ausencia.

Especies	Municipios del departamento de Sucre							
	San Onofre	Tolú Viejo	Colosó	Chalán	Sincelejo	Moravia	Ovejas	Galaras
<i>Aechmea bracteata</i> (Sw.) Griseb	-	-	-	x	-	-	-	-
<i>Ananas comosus</i> var. <i>ananassoides</i> (Baker) Coppens y F. Leal.	-	-	-	-	-	-	-	x
<i>Ananas</i> sp.	-	-	-	x	-	-	-	-
<i>Bromelia chrysantha</i> Jacq	-	x	-	-	-	-	-	-
<i>Bromelia karatas</i> L.	-	-	-	-	-	-	x	x
<i>Bromelia pinguin</i> L.	-	-	-	x	-	-	-	-
<i>Tillandsia balbisiana</i> Schult. F.	x	-	-	-	-	-	x	-
<i>Tillandsia elongata</i> Kunth	x	x	x	-	x	-	x	x
<i>Tillandsia fasciculata</i> Sw	-	-	-	x	-	-	-	-
<i>Tillandsia flexuosa</i> (Baker) Mez.	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Tillandsia juncea</i> (Ruiz y Pav.) Poir.	-	-	-	x	-	-	x	-
<i>Tillandsia recurvata</i> (L.) I	-	-	x	x	-	x	x	x
<i>Tillandsia usneoides</i> (L.) I	-	x	-	x	x	-	-	-
<i>Tillandsia</i> sp.	-	-	-	x	-	-	-	-
Total	3	4	3	9	4	2	6	5

6.2 Caracterización morfológica de frutos y semilla

La caracterización morfológica se realizó en las especies *Ananas comosus* var. *ananassoides*, *Bromelia karatas*, *Tillandsia elongata*, *Tillandsia flexuosa*, *Tillandsia recurvata* y *Tillandsia usneoides*, las cuales presentaron su periodo reproductivo durante el desarrollo de este trabajo.

***Ananas comosus* var. *ananassoides*:** Presenta frutos compuestos de forma ovoide, con un tamaño aproximado de 81.9 mm de largo, y 57.1 mm de ancho (Tabla 2), son de color verde cuando inmaduros y color amarillo en su madurez, tienen aroma fragante y dulce, las hojas de la corona son verdes con márgenes espinosos (Fig. 4). Cada fruto tiene en promedio 4.3 semillas (Tabla 2), las cuales son pequeñas, ovoides de color marrón, miden 4,6 mm de largo y 2,2 mm de ancho (Tabla 3), su tegumento es rugoso y presenta pliegues (Fig. 4).

***Bromelia karatas*:** Su fruto es una baya agridulce y jugosa de cáscara color café, completamente tomentoso, fusiforme, estrecho en la parte basal y apical, pero un poco más redondo en la parte central (Fig. 5), Presenta un tamaño aproximado de 103, 1 mm de largo y 15, 9 mm de ancho. La pulpa es de color blanco y se divide en tres lóculos, con dos series de semillas. Cada fruto tiene en promedio 69 semillas, ubicadas alternamente hacia el centro (Tabla 2). Las semillas son pequeñas con forma subglobosa, miden 4,0 y 3.5 mm de largo y ancho respectivamente, de cubierta seminal color marrón (Tabla 3; Fig. 5).

Tabla 2: Datos biométricos y número de semillas por fruto de seis especies de Bromeliaceae. Valores seguidos por letras diferentes en la misma columna, difieren estadísticamente por el test de Tukey ($P < 0,05$).

Especie	Medidas de los frutos (mm)		# Semillas/ fruto
	Largo	Ancho	
<i>Ananas comosus</i> var. <i>ananassoides</i>	81,9 b	57,1 a	4,0 f
<i>Bromelia karatas</i>	103,1 a	15,9 b	69,0 c
<i>Tillandsia elongata</i>	32,8 c	2,9 c	104,0 b
<i>Tillandsia flexuosa</i>	74,6 b	3,5 c	113,0 a
<i>Tillandsia recurvata</i>	36,2 c	1,8 c	42,0 d
<i>Tillandsia usneoides</i>	23,9 d	1,9 c	18,0 e

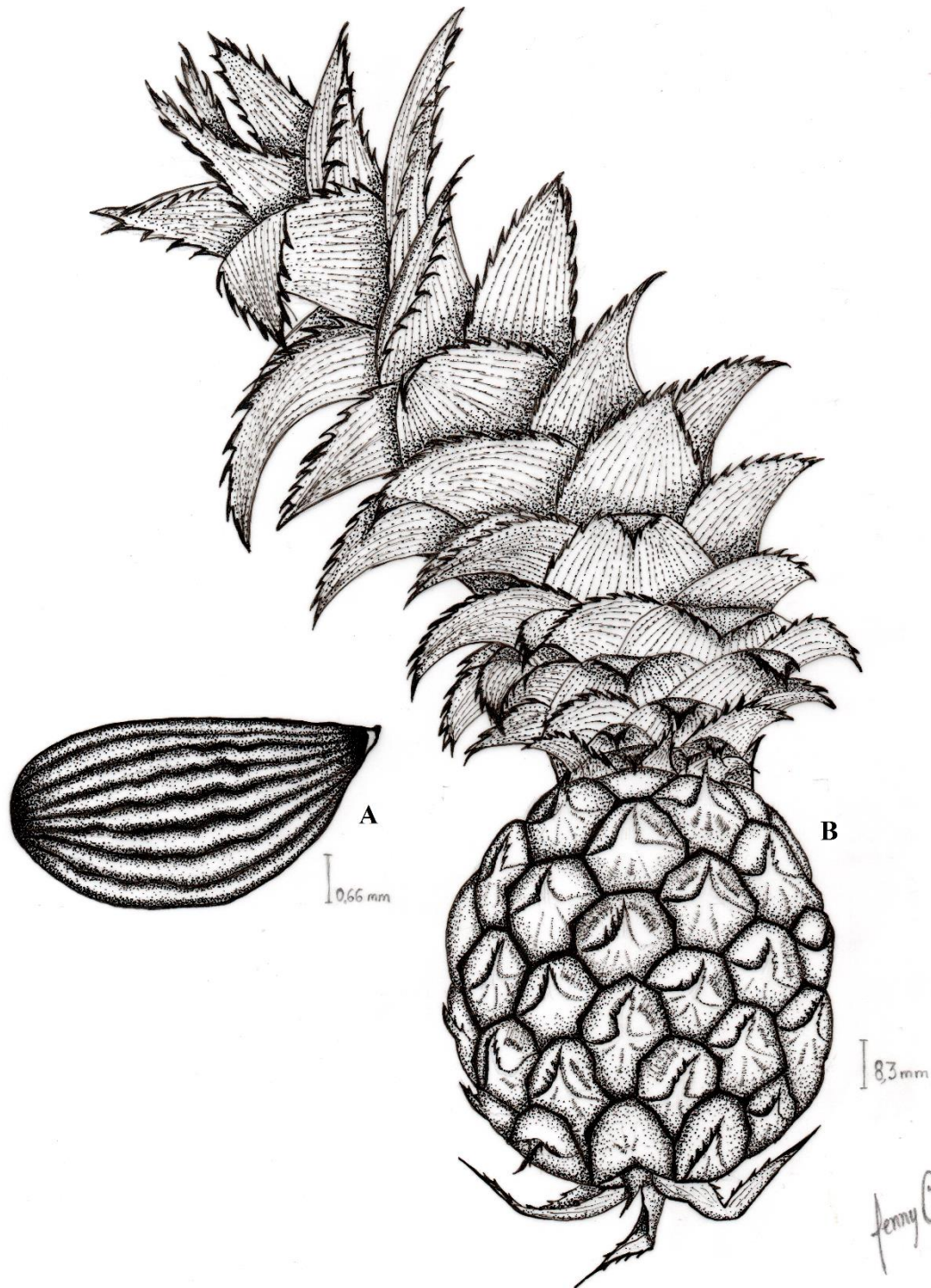
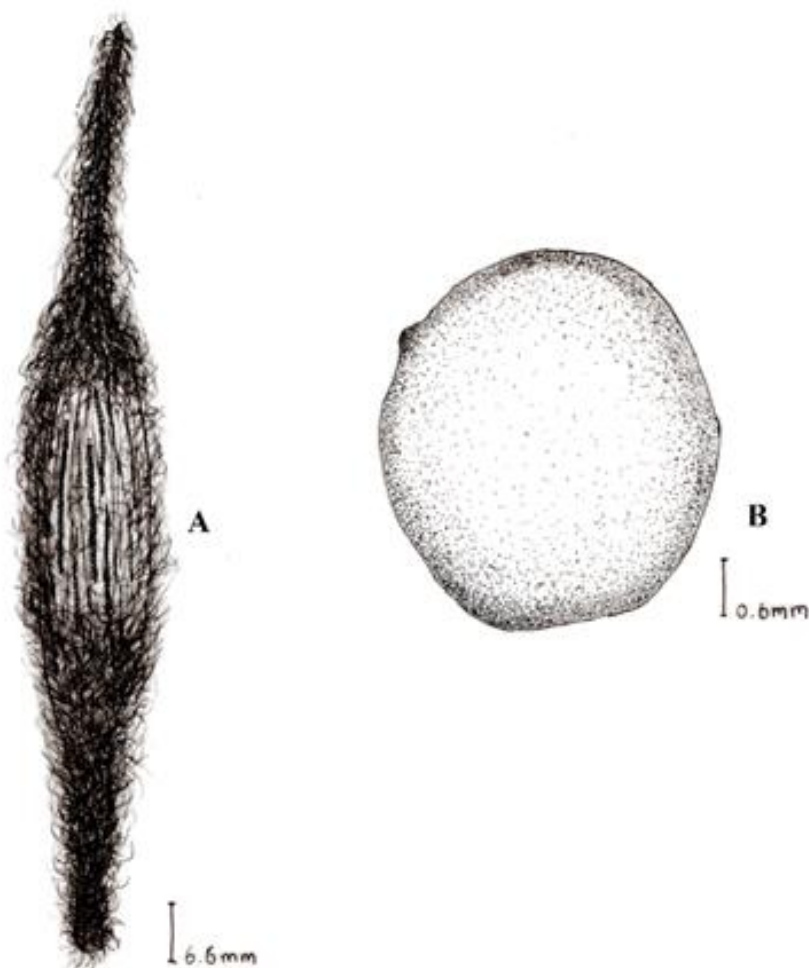


Figura. 4: Aspecto morfológico de frutos y semillas de *Ananas comosus* var. *ananassoides*. A) Semilla. B) fruto compuesto.

Tabla 3: Datos biométricos de semillas de seis especies de Bromeliaceae. Valores seguidos por letras diferentes en la misma columna, difieren estadísticamente por el test de Tukey ($P < 0,05$).

*Especies que no presentan apéndices plumosos.

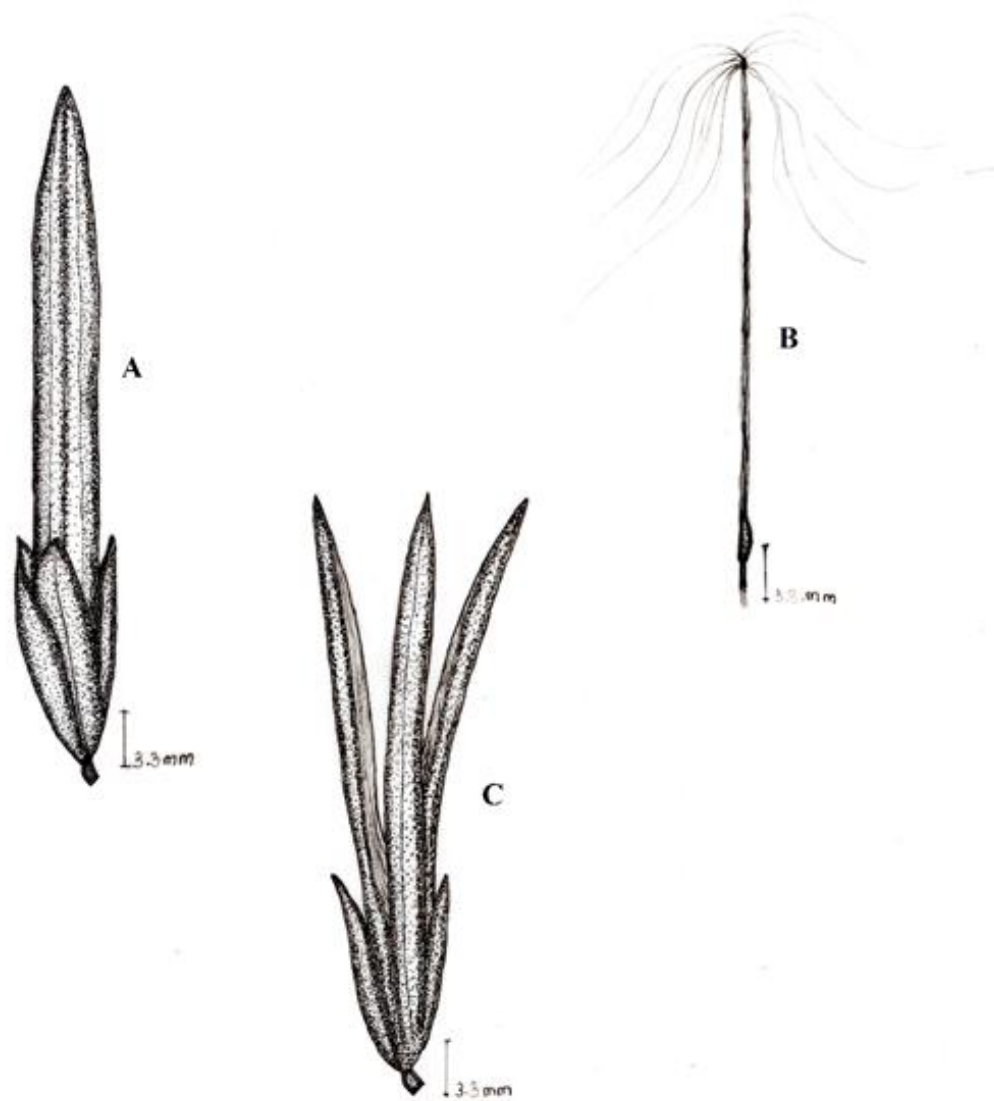
Especie	Largo con apéndice	Largo sin apéndice	Ancho
<i>Ananas comosus</i> var. <i>ananassoides</i> *	--	4,6 ab	2,2 b
<i>Bromelia karatas</i> *	--	4,0 ab	3,5 a
<i>Tillandsia elongata</i>	28,2 b	3,5 b	0,4 d
<i>Tillandsia flexuosa</i>	52,8 a	6,4 a	0,8 c
<i>Tillandsia recurvata</i>	28,2 b	4,6 ab	0,3 d
<i>Tillandsia usneoides</i>	19,8 c	3,8 b	0,3 d



Adriana Martelo

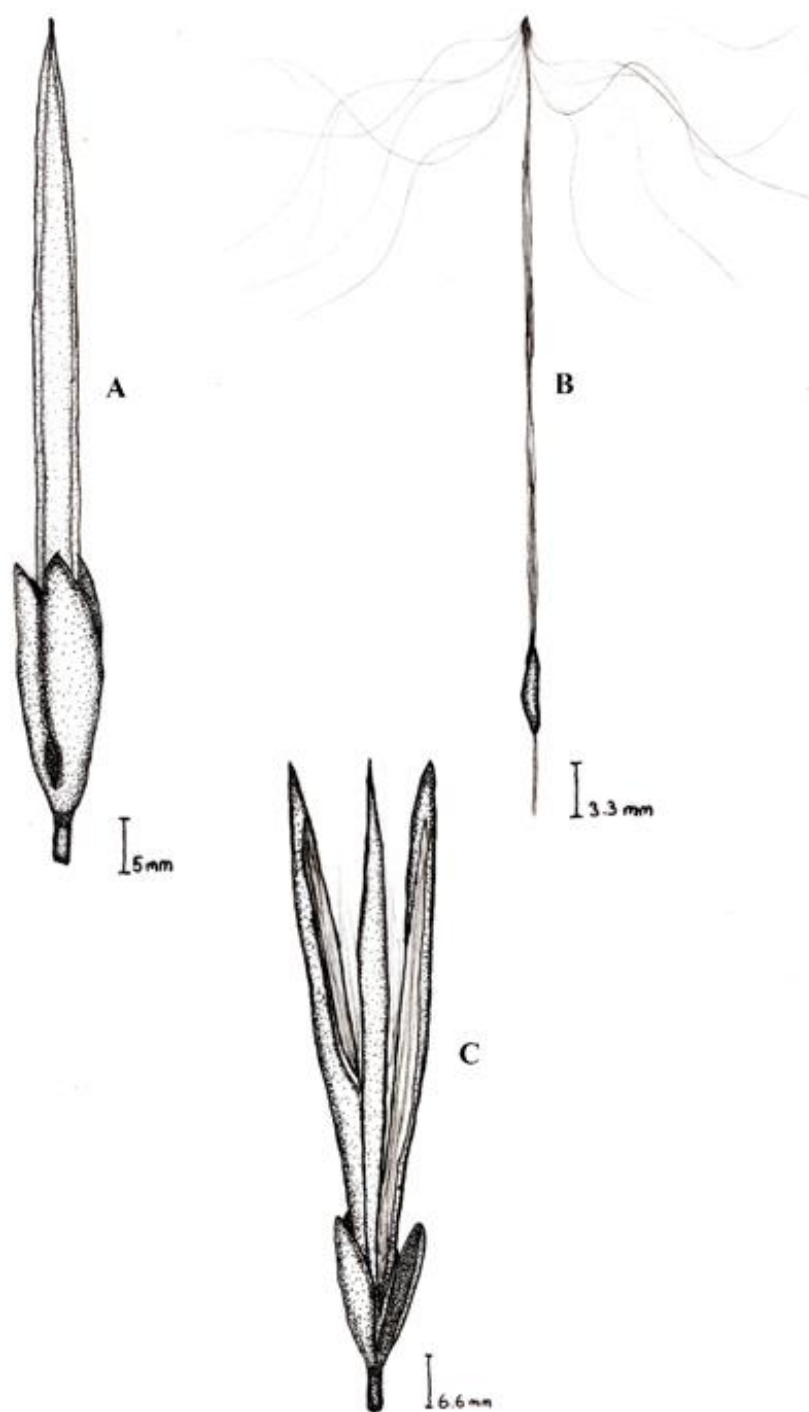
Figura. 5: Aspecto morfológico de frutos y semillas de *Bromelia karatas*. A) Fruto. B) Semilla.

En las especies *Tillandsia elongata*, *T. flexuosa*, *T. recurvata* y *T. usneoides* los frutos son cápsulas dehiscentes, tricarpeles de color verde cuando inmaduros y color café en su madurez. El tamaño del fruto, el número de semillas que presenta y las dimensiones de las semillas varían según la especie (Tabla 2 y 3). Presentan semillas fusiformes con apéndices plumosos en el extremo micropilar, que están formados por numerosos pelos blanquecinos filiformes. Los apéndices están ubicados en la base del fruto (Fig. 6, 7, 8, 9). Se encontró que la longitud de los apéndices va desde 15.9 en la especie *T. usneoides* a 46.4 mm en la especie *T. flexuosa* (Tabla 3). El tegumento de las semillas varía de color café claro (*T. elongata*) a amarillo claro (*T. flexuosa*, *T. recurvata*) y blanquecino (*T. usneoides*).



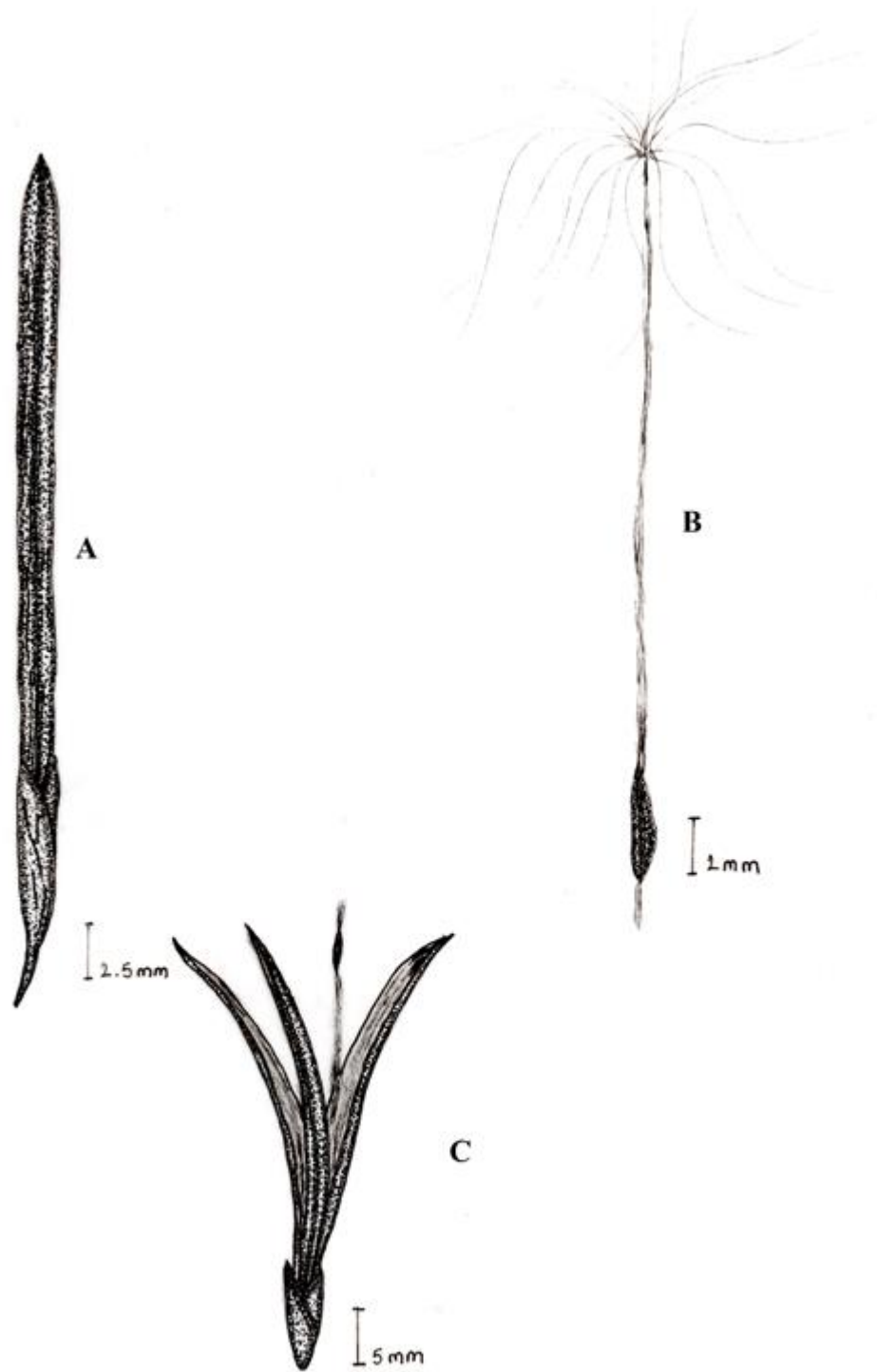
Adriana Martelo

Figura. 6: Aspecto morfológico de frutos y semillas de *Tillandsia elongata*. A) Fruto. B) Semilla. C) Fruto abierto.



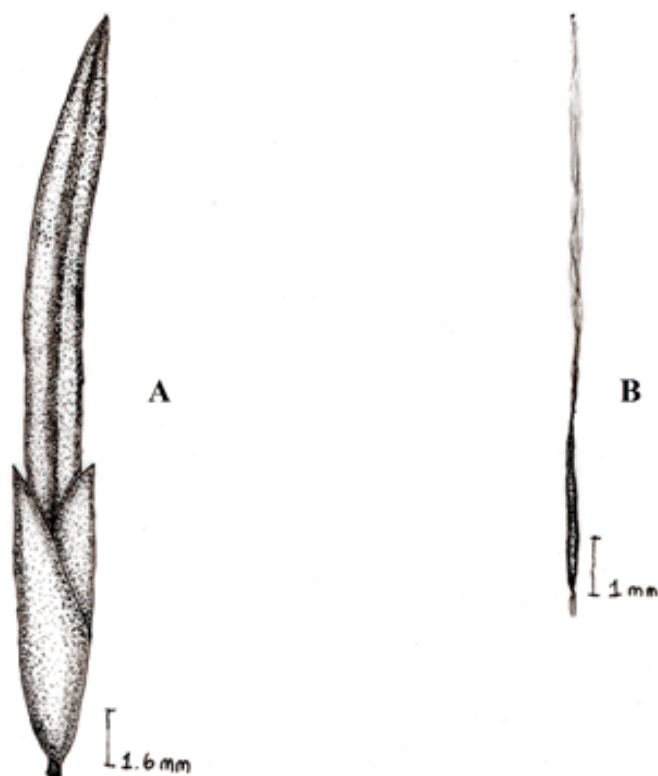
Adriana Martelo

Figura. 7: Aspecto morfológico de frutos y semillas de *Tillandsia flexuosa*. A) Fruto. B) Semilla. C) Fruto abierto.



Adriana Martelo

Figura. 8: Aspecto morfológico de frutos y semillas de *Tillandsia recurvata*. A) Fruto. B) Fruto abierto. C) Semilla.



Adriana Martelo

Figura. 9: Aspecto morfológico de frutos y semillas de *Tillandsia usneoides*. A) Fruto. B) Semilla.

De acuerdo con eso, en la morfometría de los frutos se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la medida de largo entre especies, siendo *B. karatas* la que presentó una longitud significativamente mayor que el resto de las especies, y *T. usneoides* la que presentó la menor longitud. El ancho de *A. comosus* var. *Ananassoides* fue significativamente mayor con respecto a las otras especies. La especie *B. karatas* también difiere de las otras especies. En cuanto al número de semillas por fruto, todas las especies presentan diferencias significativas entre sí (Tabla 2).

En cuanto a las medidas de las semillas se encontraron diferencias significativas entre las características como el largo con apéndice plumoso, donde *T. elongata* y *T. recurvata* difieren significativamente de *T. flexuosa* y esta a su vez de *T. usneoides*. En cuanto a la longitud de la semilla sin apéndice las especies *T. flexuosa*, *T. recurvata* y *B. karatas* son similares entre sí, y difieren significativamente de las otras especies estudiadas. La medida de ancho de la semilla en la especie *A. comosus* var. *Ananassoides* difiere significativamente del resto de las especies, al igual que *B. karatas* y *T. flexuosa* (Tabla 3).

6.3 Caracterización anatómica e histoquímica de semillas

***Ananas comosus* var. *ananassoides*:** Las semillas de esta especie presentan un tegumento conformado por tres capas de células irregulares en tamaño y forma (Fig. 10C), siendo que, la segunda capa está constituida por macroesclereidas. Se clasifican como semillas albuminosas, con un endospermo que ocupa un 85% del volumen total y está situado hacia la región chalazal. En el endospermo, la región periférica consiste en una capa bien diferenciada de células alargadas (Fig. 10H); la región central está conformada por numerosas células irregulares de paredes delgadas (Fig. 10E), y, en la región próxima al cotiledón, el endospermo adyacente presenta células irregulares más diferenciadas y de mayor tamaño (Fig. 10J). El embrión ocupa el 15% de la semilla, está situado en la región micropilar, y sus células son isodiamétricas y más densas que las células del endospermo (Fig. 10A).

Mediante los resultados obtenidos en el análisis histoquímico, se determinó que las semillas de esta especie poseen paredes celulósicas teñidas de azul en la región periférica del endospermo y compuestos fenólicos teñidos de verde en el tegumento (Fig. 10B) identificando la reacción metacromática positiva con la prueba de ATO. La presencia de polisacáridos neutros fue positiva con la prueba PAS, y se evidenció con una coloración magenta en las células del endospermo y en la segunda capa de células del tegumento (Fig. 10F). El Lugol reaccionó positivamente en las células de la región central del endospermo, tiñendo de color marrón los granos de almidón (Fig. 10D) y en la región periférica no hubo reacción al colorante (Fig. 10C). La prueba con Azul de Coomassie fue positiva para proteínas, presentando una coloración azul en las células de la región periférica del endospermo y en la segunda capa del tegumento (Fig. 10H). La presencia de pectinas se determinó con Rojo de Rutenio, y se observa en las paredes de las células del endospermo con una coloración rosada (Fig. 10E). La presencia de compuestos fenólicos en el tegumento se confirmó nuevamente con Cloruro Férrico y este a su vez reaccionó de manera positiva en la región periférica del endospermo, con una coloración negra (Fig. 10I). Con Sudan III se confirmó la presencia de lípidos en el embrión y en la región periférica del endospermo teñidas de anaranjado (Fig. 10A, J). La presencia de ligninas fue negativa para la tinción con Floroglucina Ácida (Fig. 10G).

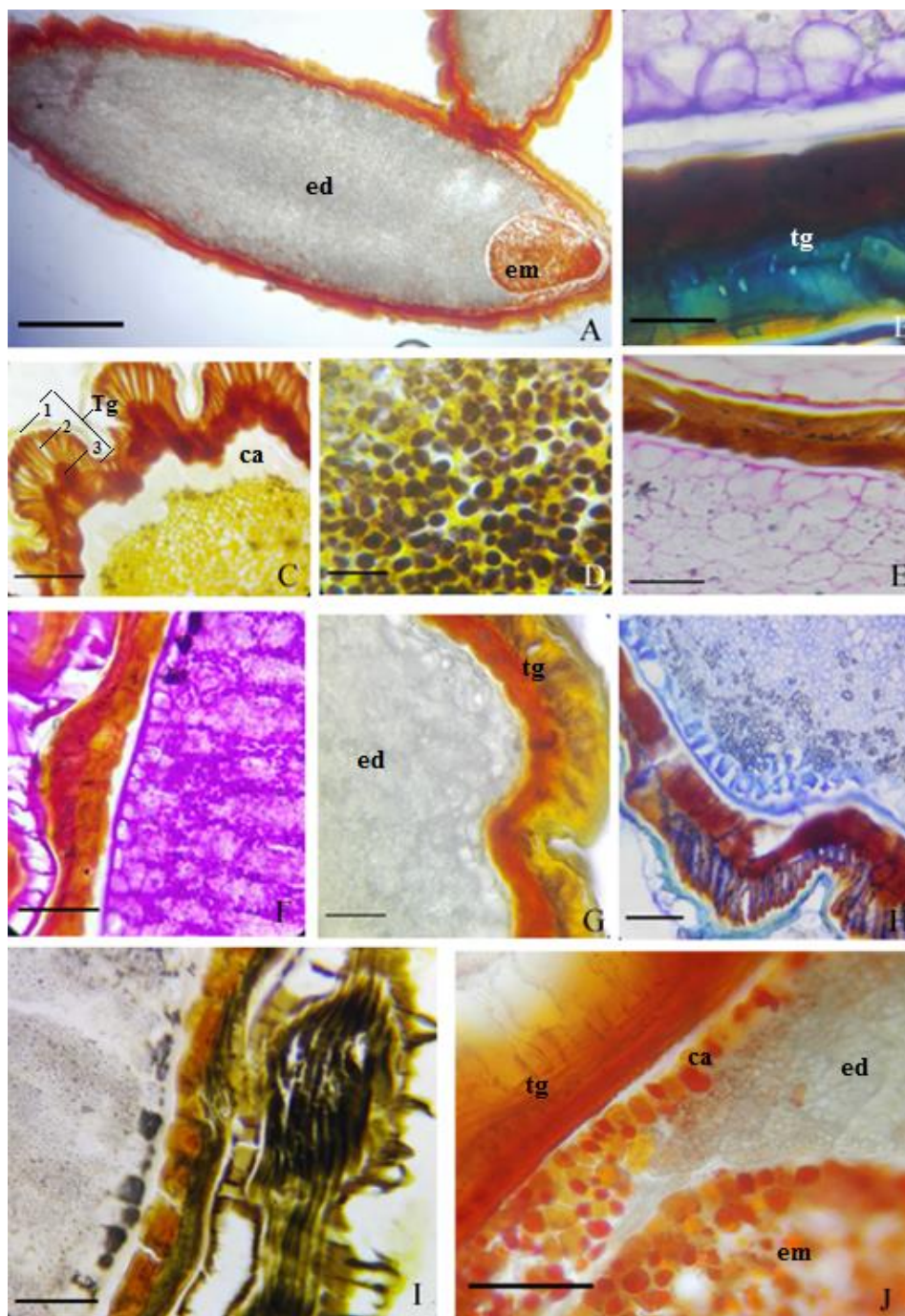


Figura. 10: Cortes anatómicos en sección longitudinal y pruebas histoquímicas en semillas de *Ananas comosus* var. *ananassoides*. A. Porción ocupada por el embrión en la semilla. Tinciones B). ATO; C. Lugol. Se identifican tres capas de células en el tegumento (flechas). D. Lugol, que permite la identificación de granos de almidón (flecha). E. Rutenio rojo. F. PAS. G. Floroglucina acida (Tinción negativa). H. Azul de Coomassie. I. Cloruro férrico. J. Sudan, que permite la identificación de gránulos de lípidos (flechas) en el embrión y la capa de aleuronas. em: embrión, ed: endospermo, tg: tegumento, ca: capa de aleuronas, (Barra = 100 μ m).

***Bromelia karatas*:** El tegumento está compuesto por tres capas de células de diferente tamaño y forma (Fig. 11D, L). El endospermo está situado hacia la región chalazal, y es abundante. La región periférica está conformada de células irregulares de que varían de isodiamétricas a rectangulares (Fig. 11C, L), y la región central está formada por numerosas capas de células irregulares (Fig. 11F). En la parte del endospermo adyacente al embrión hay de ocho a diez capas de células isodiamétricas de mayor tamaño (Fig. 11G). En la región micropilar de la semilla se encuentra el embrión, que ocupa el 10% de la misma (Fig. 11A), sus células son más densas que las del endospermo, irregulares con paredes delgadas.

Hay presencia de compuestos fenólicos en el tegumento y paredes celulósicas en el endospermo (Fig. 11K, L). La prueba para polisacáridos neutros fue positiva en el endospermo y en la capa de células más externa del tegumento (Fig. 11J). Se determinó la presencia de almidón en el endospermo (Fig. 11H), sin embargo, en la capa de células en la región periférica no hubo reacción al colorante (Fig. 11I). La presencia de proteínas se observó en el embrión (Fig. 11E), en las paredes de las células del endospermo (Fig. 11F) y las células del endospermo adyacente al embrión presentan mayor contenido proteico (Fig. 11G). La presencia de pectinas fue positiva en las paredes de las células de la región periférica del endospermo y en la capa más externa del tegumento (Fig. 11C). La presencia de lípidos se observó en la región periférica del endospermo, en el embrión (Fig. 11B) y en un cumulo de células ubicadas en las partes laterales del embrión (Fig. 11D). La prueba para la presencia de lignina fue negativa con Floroglucina ácida (Fig. 11A).

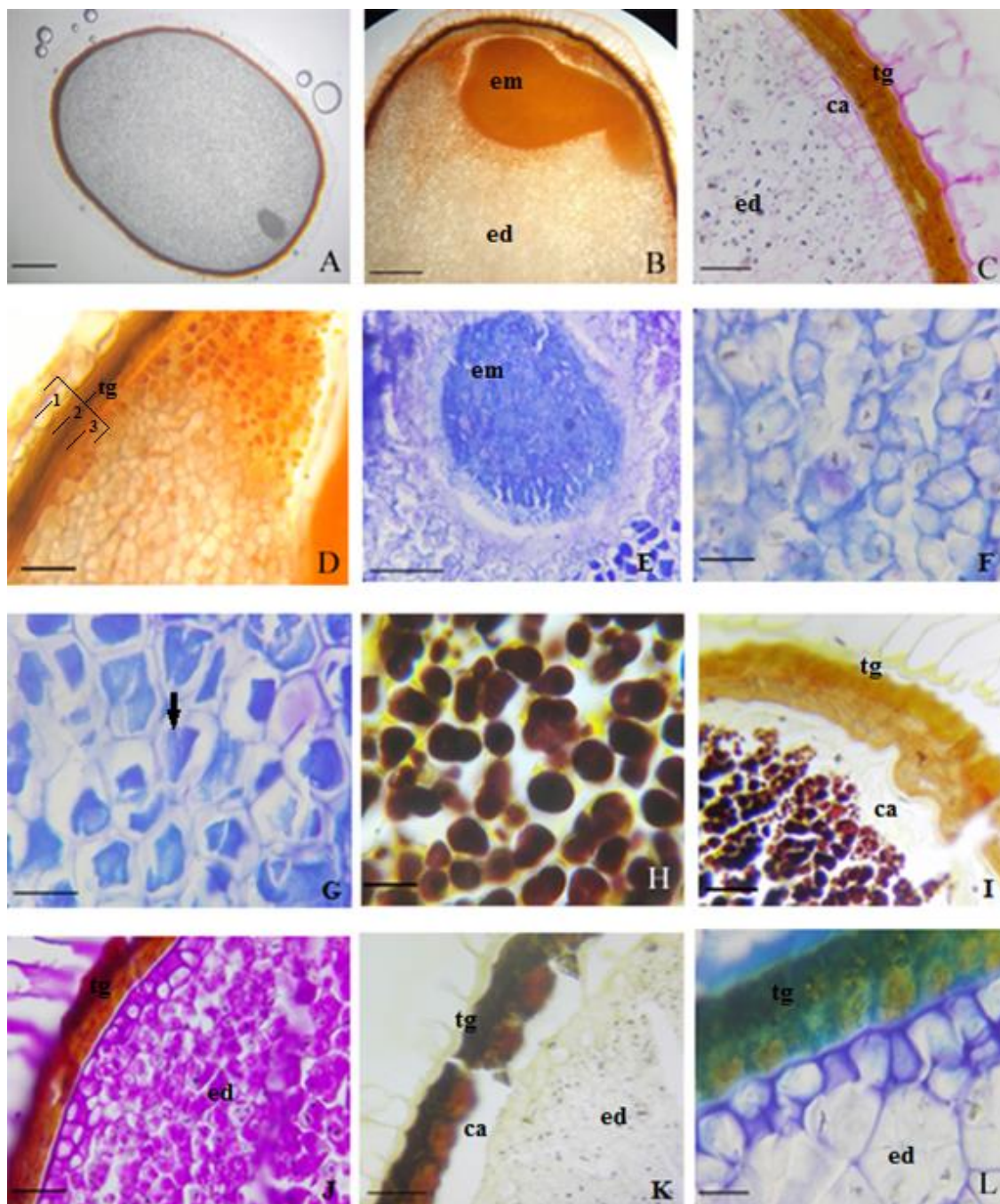


Figura. 11: Cortes anatómicos en sección longitudinal y pruebas histoquímicas en semillas de *Bromelia karatas*. A). porción ocupada por el embrión en la semilla. B). embrión y endospermo con Sudan III. C). Rojo de Rutenio para pectinas. D). lípidos en la periferia del tegumento. E). Proteínas en el embrión. F). proteínas en el tegumento. G). cuerpos proteicos flecha negra. H.) granos de almidón. I). capa de aleuronas sin almidón. J). PAS para polisacáridos. K). compuestos fenólicos teñidos de negro con Cloruro Férrico. L). ATO, la reacción positiva para los compuestos fenólicos da un color verde, azul para celulosa. em: embrión, ed: endospermo, tg: tegumento, ca: capa de aleuronas, (Barra = 100 μ m).

***Tillandsia elongata*:** El tegumento de sus semillas es biseriado (Fig. 12D, G), se clasifican como albuminosas, el endosperma está situado hacia la región chalazal. La región periférica está compuesta por una sola capa de células alargadas de apariencia rectangular, y la región central está formada por numerosas capas de células isodiamétricas irregulares en forma y tamaño (Fig. 12D). El embrión se sitúa en la región micropilar y ocupa un 30% de la semilla (Fig. 12A), la epidermis del cotiledón es uniseriada con células alargadas, las demás células del embrión son irregulares que varían de isodiamétricas a rectangulares, al igual que en la porción media del eje hipocótilo-radicular. Presenta también una zona de constricción con células rectangulares en la periferia (Fig.12F).

Se determinó la presencia de celulosa en tegumento, embrión y endospermo, en este las células de la región periférica tienen mayor contenido celulósico, y en la región central solo hay presencia en las paredes celulares (Fig. 12H), los polisacáridos neutros se observaron en las paredes del endospermo y en el embrión (Fig. 12F). La presencia de almidón fue positiva en la región central del endospermo, y negativa en la región periférica (Fig. 12I). Las pectinas se encuentran presentes en las paredes de las células de la región periférica del endospermo y en la capa más externa del tegumento (Fig. 12G). El tegumento presenta compuestos fenólicos (Fig. 12E), y el endospermo proteínas (Fig. 12B). Hay presencia de lípidos en la región periférica del endospermo y en el embrión (Fig. 12A, D). La presencia de lignina fue negativa con Floroglucina ácida (Fig. 12C).

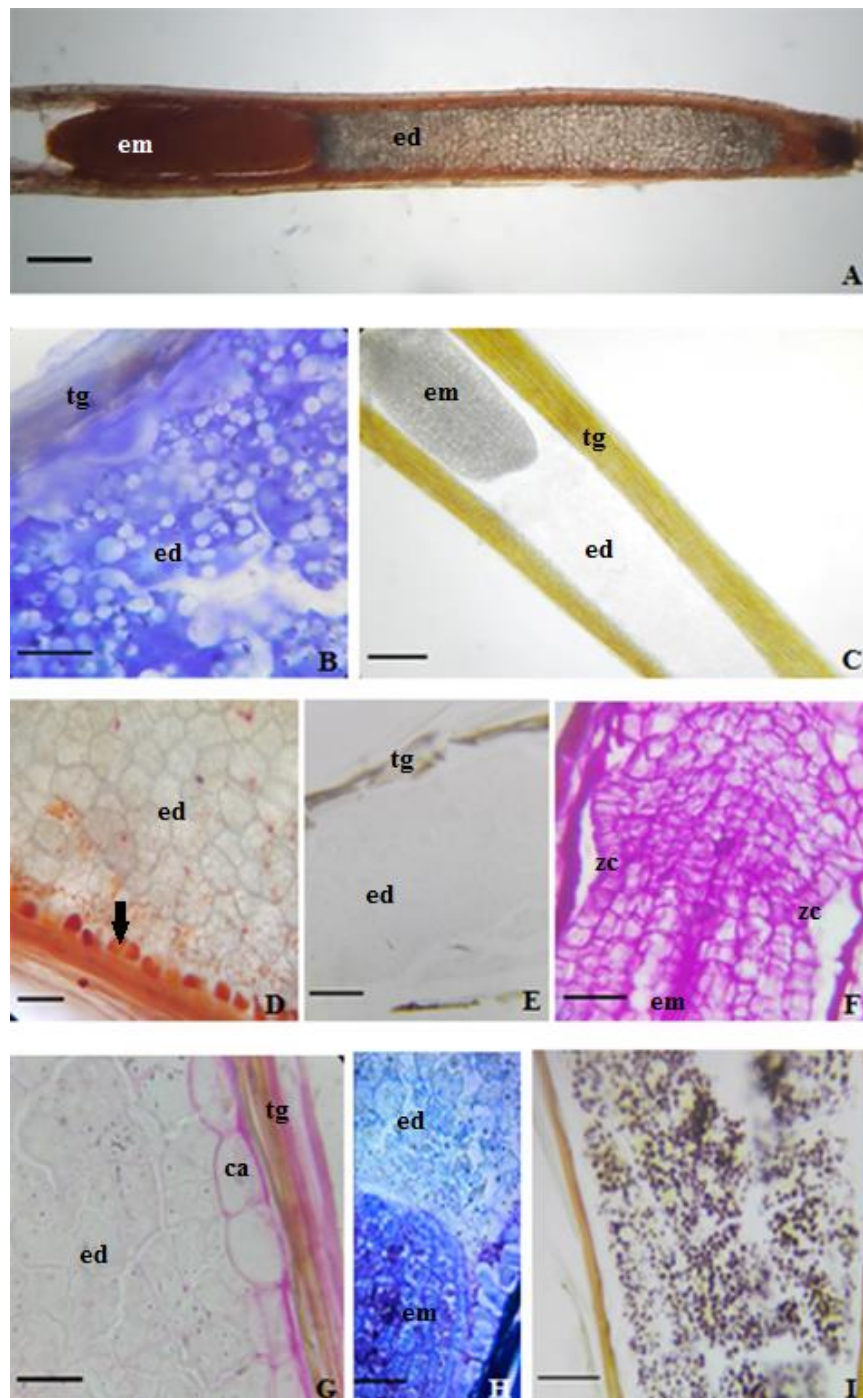


Figura. 12: Cortes anatómicos en sección longitudinal y pruebas histoquímicas en semillas de *Tillandsia elongata*. A). Porción ocupada por el embrión en la semilla. B). Azul de Coomassie positivo para proteína. C). reacción negativa para Floroglucina acida. D). Granos de lípidos en la capa de aleuronas (flecha). E). compuestos fenólicos en el tegumento teñido de negro. F). Zona de constricción y reacción positiva para polisacáridos neutros. G). Rojo de rutenio positivo para pectinas. H). ATO, reacción positiva para celulosa. I). granos de almidón en el endospermo. em: embrión, ed: endospermo, tg: tegumento, ca: capa de aleuronas, zc: zona de constricción (Barra = 100 μ m).

T. flexuosa el tegumento tiene dos capas de células (Fig. 13I), presentan un endospermo situado en la región chalazal, la región periférica está conformada por células alargadas e isodiamétricas de paredes delgadas (Fig. 13B), y la región central consiste en numerosas células isodiamétricas de paredes delgadas (Fig. 13F). El embrión está situado en la región micropilar y ocupa un 40%, presenta un eje hipocótilo-radicular conformado por células densas isodiamétricas ovoides, con paredes engrosadas (Fig. 13E), las células de la epidermis del embrión son alargadas y achatadas. También presenta una zona de constricción (Fig. 13A).

Se observó la presencia de celulosa en el tegumento y en las paredes celulares del endospermo (Fig. 13G). Los polisacáridos neutros se observaron en el endospermo (Fig. 13F) y en el embrión (Fig. 13E). El almidón se observa en el endospermo, sin embargo, en la región periférica la reacción fue negativa (Fig. 13H), el endospermo también presenta proteínas (Fig. 13C), y las paredes de las células en la región periférica tienen presencia de pectinas (Fig. 13B). En el tegumento se encontró presencia de compuestos fenólicos (Fig. 13J), y se identificaron lípidos en la región periférica del endospermo y en el embrión (Fig. 13A, D). La presencia de lignina fue negativa con Floroglucina ácida (Fig. 13I).

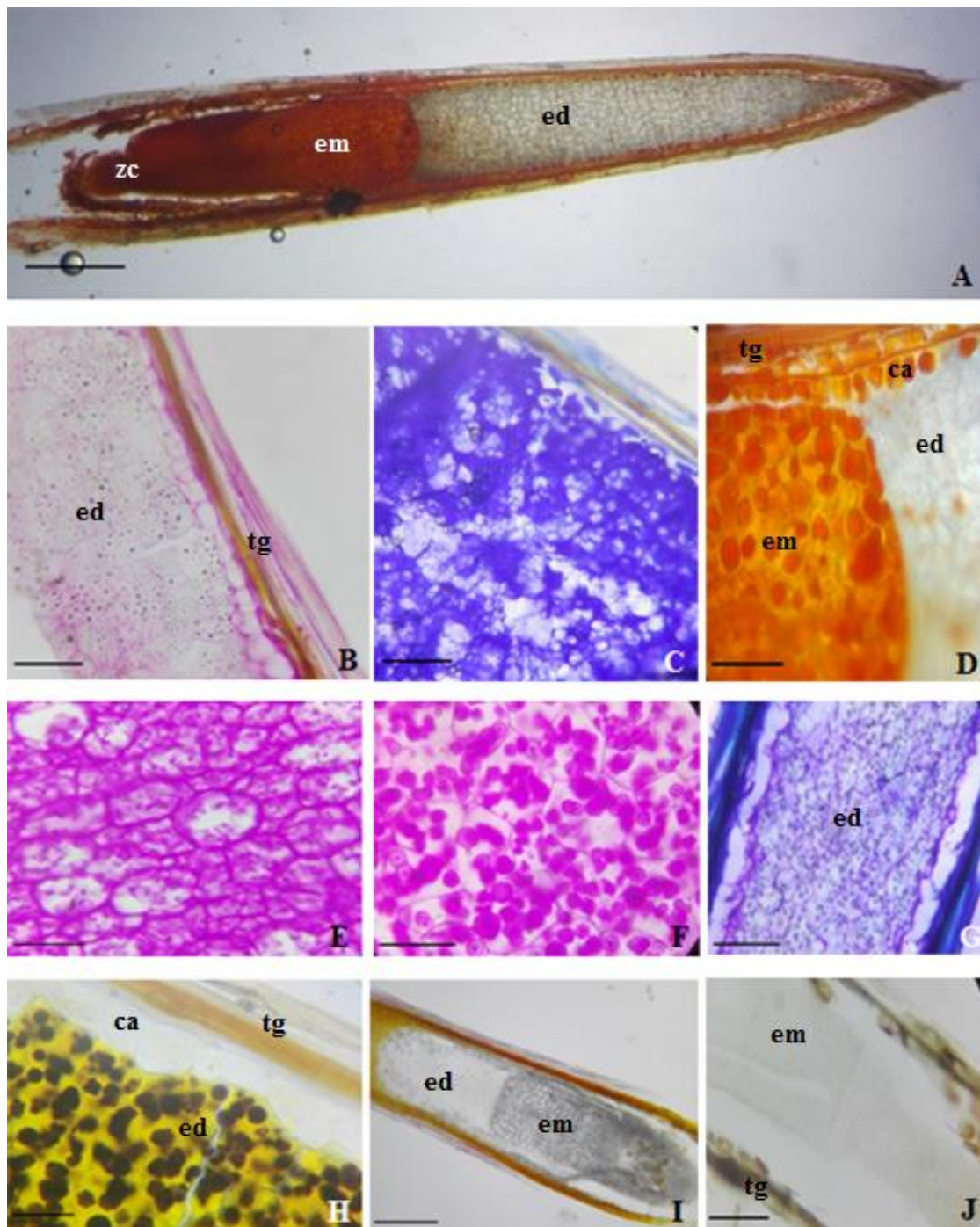


Figura. 13: Cortes anatómicos en sección longitudinal y pruebas histoquímicas en semillas de *Tillandsia flexuosa*. A). porción ocupada por el embrión en la semilla y zona de constricción. B). Rojo de rutenio positivo para pectinas. C). Azul de Coomassie positivo para proteínas. D). lípidos de color anaranjados en el embrión y en la capa de aleuronas. E). polisacáridos en embrión. F). polisacáridos en el endospermo. G). ATO, presencia de celulosa. H). gránulos de almidón en el endospermo. I). reacción negativa para Floroglucina acid. J). compuestos fenólicos en el tegumento teñidos de negro. em: embrión, ed: endospermo, tg: tegumento, ca: capa de aleuronas, zc: zona de constricción (Barra = 100 μ m).

T. recurvata las semillas de tienen un tegumento biseriado, y no presentan endospermo. El embrión ocupa el 100% de la semilla (Fig. 14A), tiene células que varían de alargadas a rectangulares ligeramente achatadas (Fi. 14E), la epidermis consiste en una capa de células alargadas, con paredes delgadas. Presenta una zona de constricción con células engrosadas en la región periférica y achatadas en el centro, las células que se encuentran antes de la zona de constricción en la región micropilar son ligeramente cuadradas con paredes engrosadas (Fig. 14E). El meristemo apical tiene células densas isodiamétricas de menor tamaño (Fig. 14D, F). En la región central se hace visible el procámbium, que consiste en una serie de células estrechamente alargadas (Fig. 14B).

Se evidencia la presencia celulosa en las paredes de las células periféricas de la zona de constricción del embrión y en el tegumento (Fig. 14E). En el embrión hay presencia de polisacáridos neutros (Fig. 14B), almidón en muy poca cantidad (Fig. 14F), proteínas (Fig. 14D) y lípidos (Fig. 14G). En el tegumento se observaron compuestos fenólicos (Fig. 14H) y pectinas (Fig. 14A). Finalmente, la prueba de Floroglucina Ácida dio negativa (Fig. 14C).

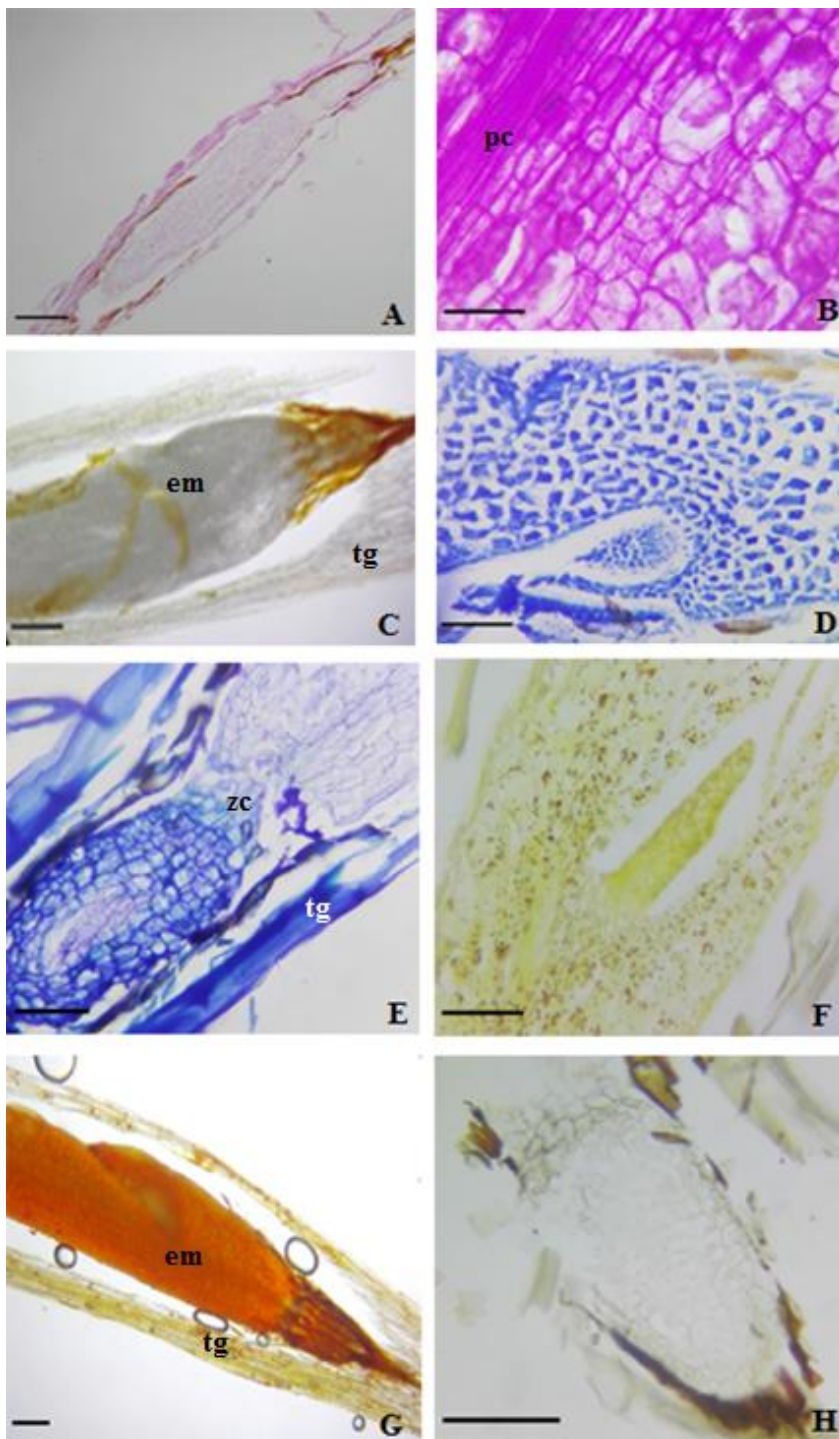


Figura. 14: Cortes anatómicos en sección longitudinal y pruebas histoquímicas en semillas de *Tillandsia recurvata*. A). embrión de la semilla ocupando el 100%. B). polisacáridos neutros teñidos de magenta y procámbium. C). prueba de Floroglucina acida negativa. D). cuerpos proteicos en el embrión. E). presencia de celulosa color azul y zona de constricción. F). poca presencia de almidón. G). color anaranjado muestra presencia de lípidos en el embrión. H). compuestos fenólicos en el tegumento. em: embrión, ed: endospermo, tg: tegumento, ca: capa de aleuronas, zc: zona de constricción, pc: procámbium, (Barra = 100 μ m).

En *T. usneoides* el tegumento de las semillas es biseriado, son de escaso endospermo, situado en la región chalazal, la región periférica está formada por células ovoides y alargadas hacia la zona del embrión (Fig. 15A), y la región central con numerosas células irregulares en forma y tamaño (Fig. 15A). El embrión ubicado en la región micropilar, presenta un eje hipocótilo-radicular y una leve zona de constricción, con células isodiamétricas ovoides de paredes delegadas (Fig. 15B), las células de la zona de constricción son ligeramente alargadas. Y se hace visible el procámbium, que representa una serie de células estrechamente alargadas ubicadas en la zona central del embrión (Fig. 15C).

Esta especie presentó polisacáridos neutros en el embrión, tegumento y endospermo (Fig. 15A, B, C), y se determinó la presencia de almidón en el endospermo (Fig. 15D).

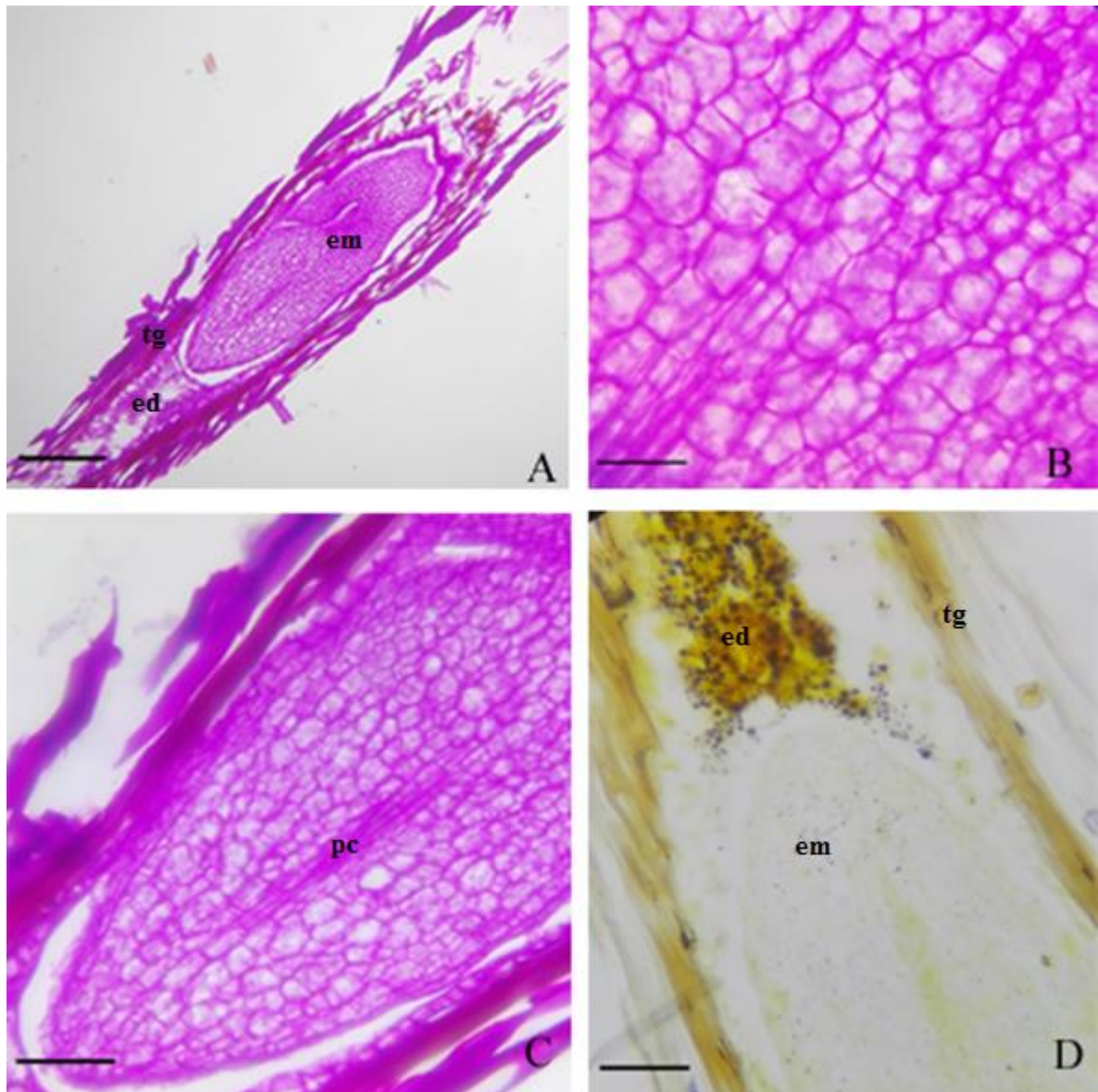


Figura. 15: Cortes anatómicos en sección longitudinal y pruebas histoquímicas en semillas de *Tillandsia usneoides*. A). porción ocupada por el embrión en la semilla. B). polisacáridos teñidos de magenta en el embrión. C). Procámbium en el embrión. D). granos de almidón en el endospermo. em: embrión, ed: endospermo, tg: tegumento, ca: capa de aleuronas, pc: procámbium, (Barra = 100 μ m).

6.4 Desarrollo post-seminal

Por la disponibilidad de material solo se caracterizó el desarrollo post-seminal de cuatro especies: *B. karatas*, *T. elongata*, *T. flexuosa*, *T. recurvata*.

Bromelia karatas

Desde el punto de vista morfológico la germinación inició después de 28 días de imbibición, con la ruptura del tegumento, la emergencia de 1 mm de la raíz primaria y el crecimiento de la vaina cotiledonar en la región micropilar (Fig. 16A,B), luego de seis días de germinación presenta la formación raíces cónicas de color blanco, con pelos absorbentes (Fig. 16C), pasados siete días más, ya el primer eofilo está en formación y es de color verde, membranoso, y en el margen se empiezan a diferenciar la formación de espinas (Fig. 16D); finalmente después de 16 días de haber germinado empieza la emergencia del segundo eofilo (Fig. 16E), en ese momento se consideró como plántula formada. El cotiledón no se desprendió del tegumento de la semilla, originando así plántulas criptocotiledonares.

La especie presentó un 14% de germinación con un IVG de 0.6 y el porcentaje de plántulas formadas fue del 10% (Tabla 4).

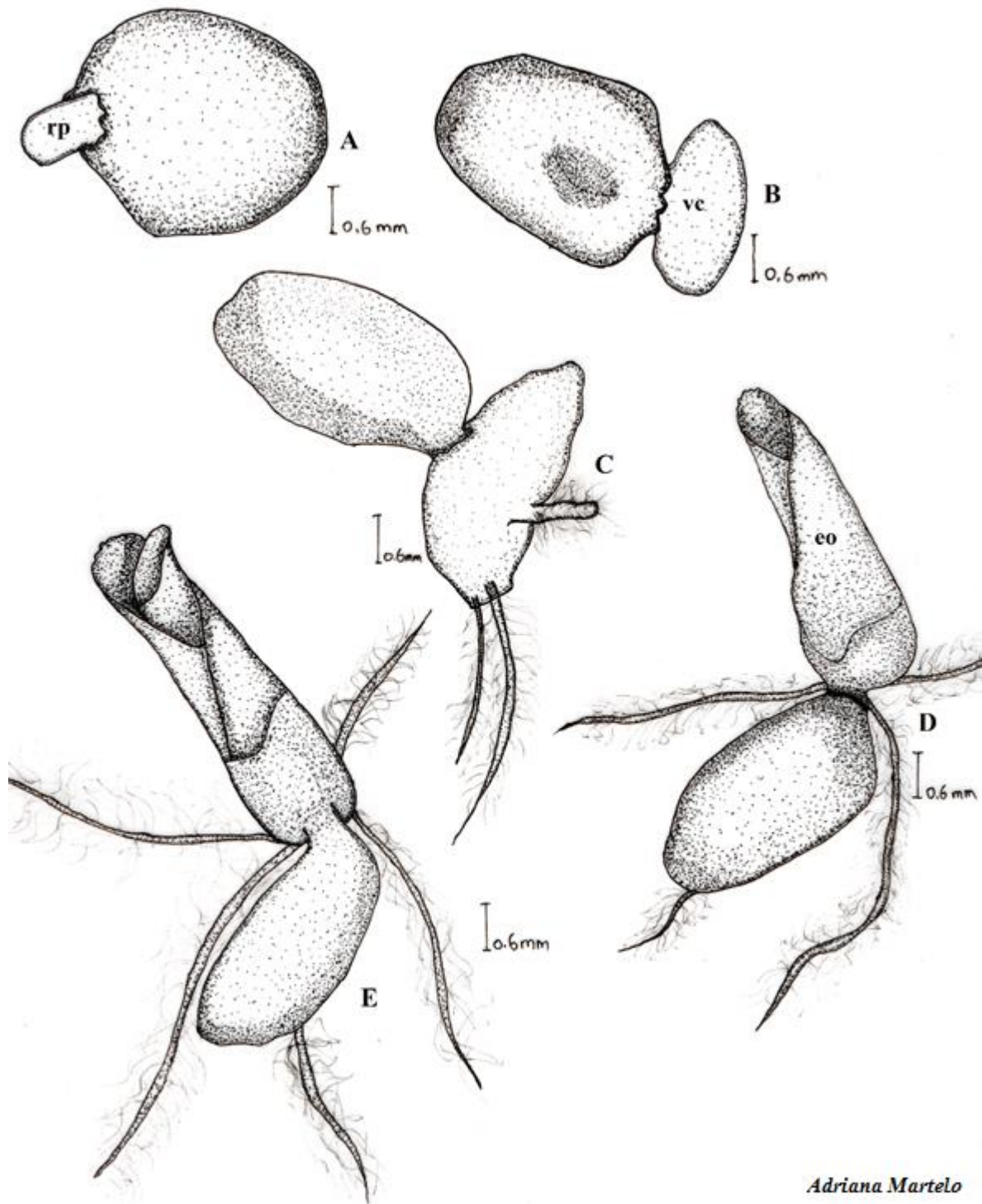


Figura. 16: Desarrollo post-seminal y formación de plántulas en *Bromelia karatas*. A, B semilla germinada. C. 6 días después de la germinación. D. aparición del eofilo a los 13 días luego de la germinación. E. plántula después de 16 días de germinación. rp: raíz primaria, vc: vaina cotiledonar eo: eofilo.

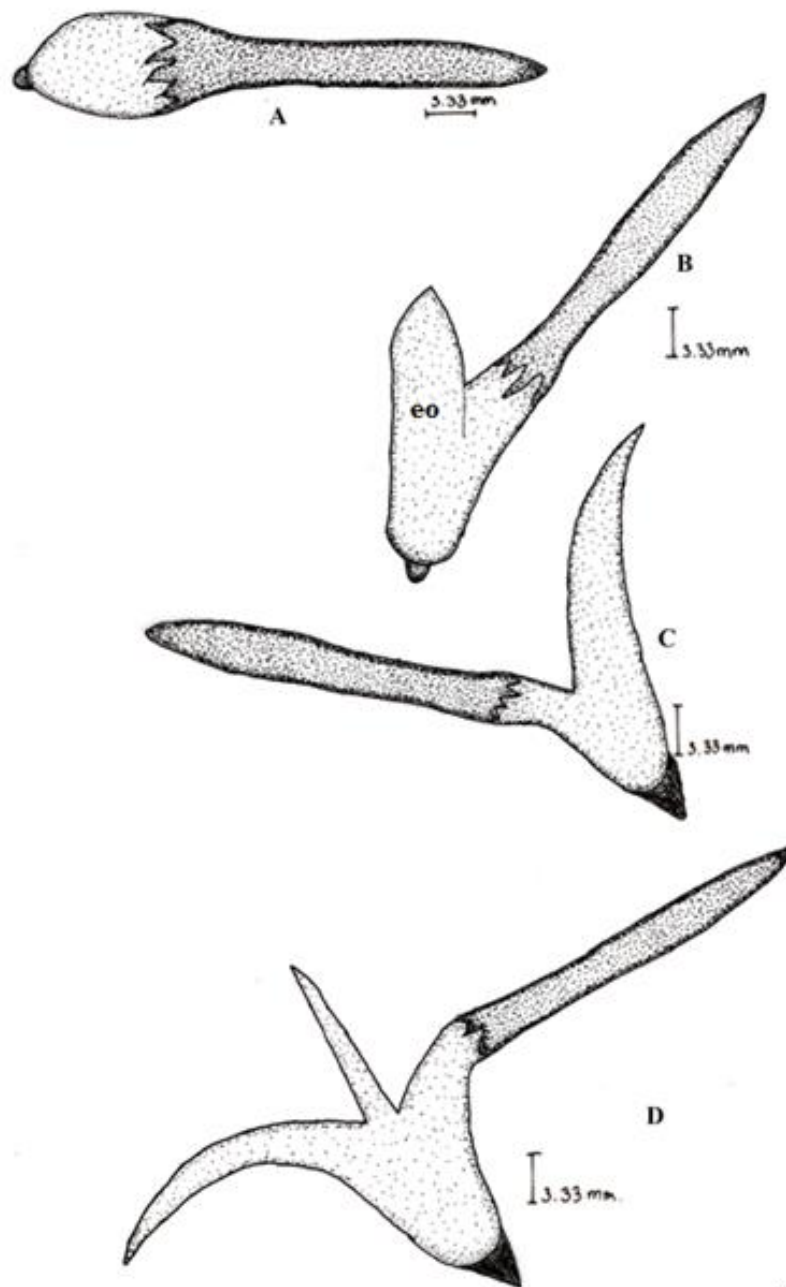
Tabla 4: Porcentaje de germinación, porcentaje de plántulas e IVG de especies de Bromelias. Valores seguidos por letras diferentes en la misma columna, difieren estadísticamente por el test de Tukey ($P < 0,05$).

Especie	Germinación	Plántulas	IVG
	(%)	(%)	
<i>Bromelia karatas</i>	14.0 c	10.0 b	0.6 c
<i>Tillandsia elongata</i>	95.6 a	77.3 a	4.7 a
<i>Tillandsia flexuosa</i>	95.8 a	77.5 a	4.6 a
<i>Tillandsia recurvata</i>	38.0 b	0.0 c	1.3 b

Tillandsia elongata

Presentó germinación epigea, el cotiledón no se desprendió del tegumento de la semilla, manteniendo su función haustorial, originando así plántulas criptocotiledonares. La germinación morfológicamente inició después de seis días de imbibición, con la emergencia de la base del cotiledón, presentando un haustorio largo y tubular (Fig. 17A), visible por transparencia en el interior de los restos seminales. Luego de 11 días de haber germinado empieza a diferenciarse el primer eofilo (Fig. 17B), más tarde transcurridos 4 a 6 días, el eofilo está completamente formado, y es clorofilado, succulento, cupuliforme, con ápice acuminado y vaina alargada (Fig. 17C). Y después de 20 a 23 días, a partir de la germinación, empieza a emerger el segundo eofilo (Fig. 17D) y se considera una plántula formada. No hubo formación de raíz primaria después de 40 días de imbibición.

La especie presentó un 95.6% de germinación con un IVG de 4.7 y el porcentaje de plántulas formadas fue del 77.3% (Tabla 4).



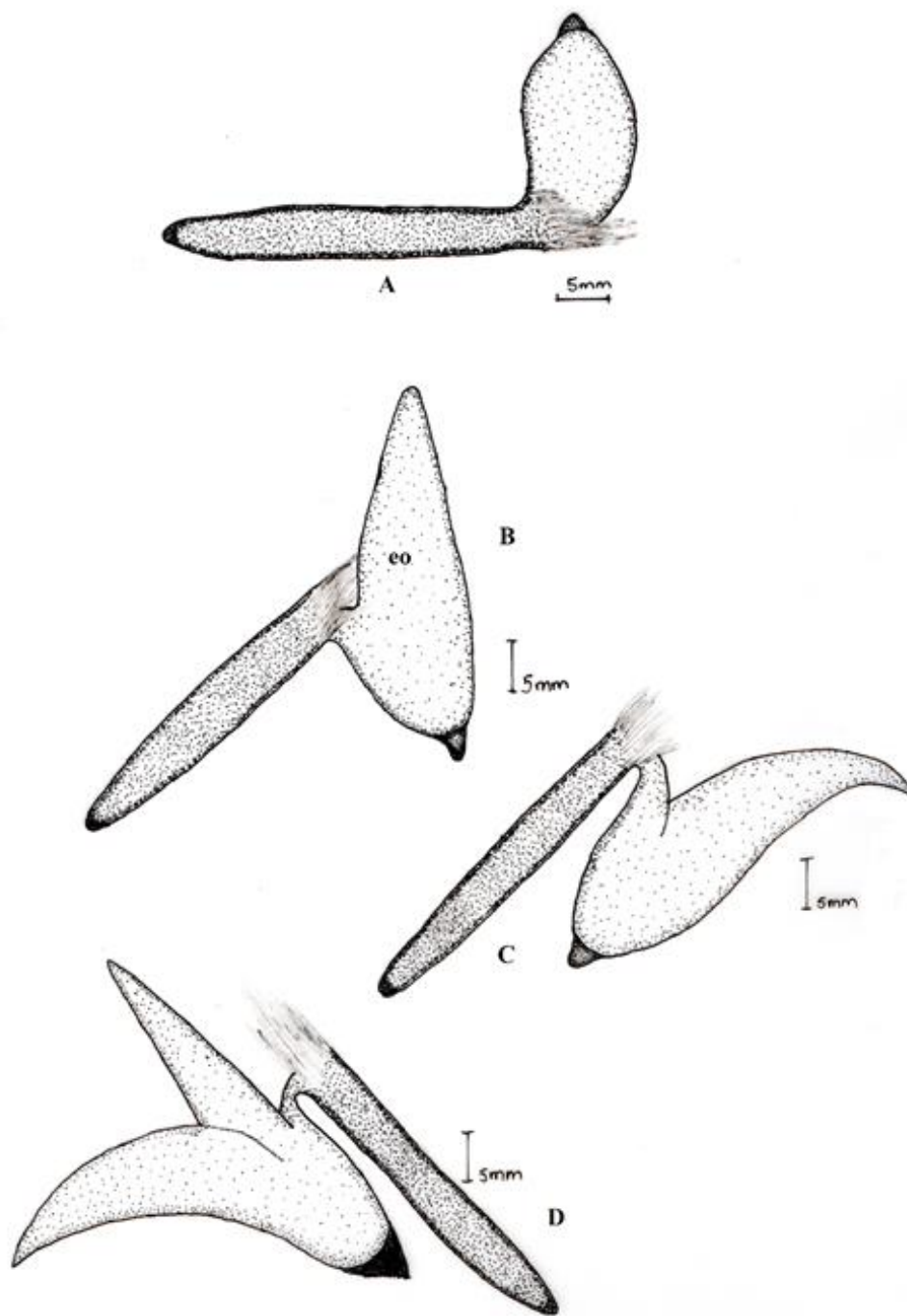
Adriana Martelo

Figura. 17. Desarrollo post-seminal y formación de plántulas en *Tillandsia elongata*. A) Semilla germinada. B) 11 días de germinación, emergencia del primer eofilo. C) De 15 a 17 días de germinación. D) De 20 a 23 días de germinación, plántula formada. eo: eofilo.

Tillandsia flexuosa

Presentó germinación epigea, el cotiledón no se desprendió del tegumento de la semilla, manteniendo su función haustorial, originando así plántulas criptocotiledonares. La germinación inició morfológicamente después de tres días de imbibición, con la emergencia de la base del cotiledón, con presencia de un haustorio largo y tubular (Fig. 18A), visible por transparencia en el interior de los restos seminales. Luego de ocho días de haber germinado empieza a diferenciarse el primer eofilo (Fig. 18B), más tarde, transcurridos 6 días, el eofilo está completamente formado, y es clorofilado, succulento, cupuliforme, con ápice acuminado y vaina alargada (Fig. 18C). Y después de 20 a 25 días, a partir de la germinación, empieza a emerger el segundo eofilo (Fig. 18C) y se considera una plántula formada. No hubo formación de raíz primaria después de 40 días de imbibición.

La especie presentó un 95.8% de germinación con un IVG de 4.6 y el porcentaje de plántulas formadas fue del 77.5% (Tabla 4).



Adriana Martelo

Figura. 18: Desarrollo post-seminal y formación de plántulas en *Tillandsia flexuosa* A) Semilla germinada. B) 8 días de germinación, emergencia del primer eofilo. C) 14 días de germinación. D) De 20 a 25 días de germinación, plántula formada. eo: eofilo.

Tillandsia recurvata

Presentó germinación epigea, el cotiledón no se desprendió del tegumento. La germinación morfológicamente inició 14 días después de la imbibición, con la emergencia de la base del cotiledón, y presenta un pequeño haustorio (Fig. 19A). Luego de 28 días de haber germinado empieza a emerger el primero eofilo (Fig. 19B), pero no hubo formación de plántulas, ni de raíz primaria después de 55 días de imbibición.

La especie tuvo un 38% germinación, y el IVG fue de 1.3 (Tabla 4).

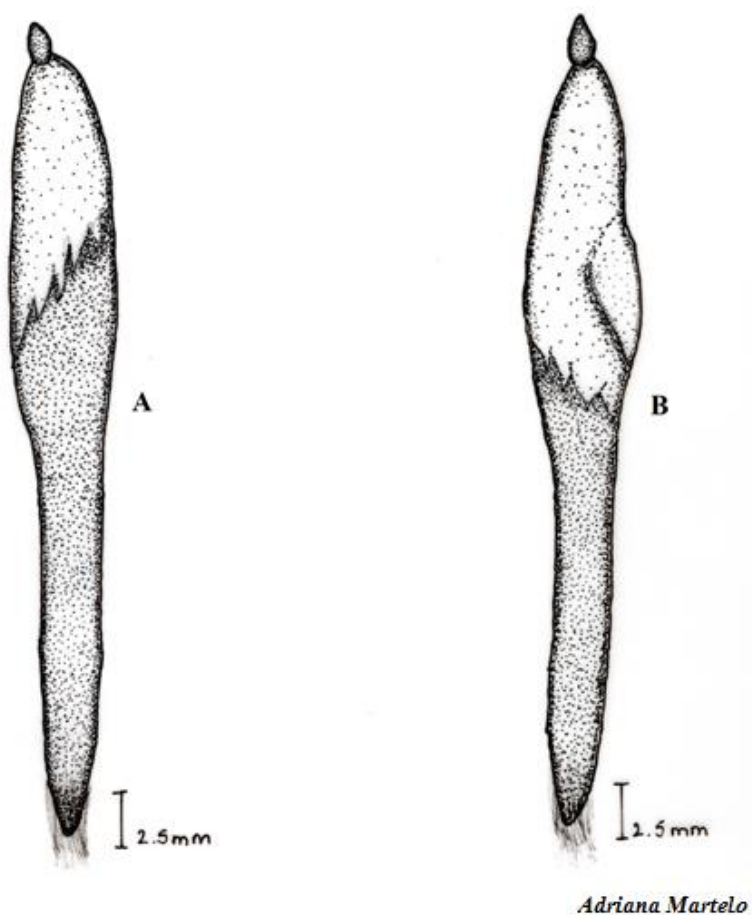


Figura. 19: Desarrollo post-seminal en *Tillandsia recurvata*. A) Semilla germinada. B) 28 días de germinación.

7. DISCUSIÓN

7.1 Bromelias presentes en el departamento de Sucre

El género *Tillandsia* con ocho especies se considera como el género más representativo de la familia Bromeliaceae en el departamento de Sucre. Betancur y Jaramillo (1998) registraron 35 especies de *Tillandsia* en dos vertientes andinas en los departamentos de Nariño y Putumayo, y recientemente Alvarado et al., (2013) registraron nueve especies del mismo género para Boyacá y Casanare; en ambos casos, siendo este género uno de los más representativos de la familia, con mayor número de especies, el cual se caracteriza por presentar adaptaciones morfológicas especializadas que les permite distribuirse en el bosque seco tropical, gracias a las diversas condiciones ambientales como humedad, temperatura, luz, entre otras (Betancur y Jaramillo, 1988; Jiménez et al., 2009) que favorecen su adecuado crecimiento y desarrollo (Alvarado et al., 2013). Además de ello, *Tillandsia* de la subfamilia Tillandsioideae, es el género que posee mayor número de especies dentro de la familia Bromeliaceae (Scatena et al., 2006). Por otro lado, las especies de la subfamilia Bromelioideae, pueden crecer en suelos pobres, en bosques y matorrales entre 50–1500 msnm y son propias de bosque seco, estacionalmente seco a bosques húmedos (Betancur y García, 2006).

La presencia de estas bromelias en el departamento de Sucre puede deberse a varios aspectos como la disposición de fuentes hídricas, estos bosques se encuentran influenciados por un conjunto de cuencas subterráneas y arroyos que le proporcionan hidratación la mayor parte del año. Otro aspecto es que, el relieve montañoso que presenta la zona le permite

retener la humedad proveniente del mar Caribe, por lo que existe menos estrés hídrico. Annaselvam y Parthasarathy (2001) y Leimbeck y Balslev (2001), determinaron que existe una mayor colonización de epífitas en localidades caracterizadas por ser húmedas y riparias. Esto puede justificar la abundancia de plantas epífitas como las especies de *Tillandsia*, puesto que estas en su mayoría dependen directamente de las condiciones atmosféricas (Cach-Pérez et al., 2014), por tanto, el bosque situado en Chalán, por su cercanía a una fuente de humedad continúa dada por la influencia de un arroyo, podría estar contribuyendo a una mayor colonización de plantas epifitas como las *Tillandsia*.

Chalán fue el municipio donde más bromelias se recolectaron incluyendo géneros como *Aechmea* y *Ananas*, mientras que en Morroa se registró un menor número de especies. En este sentido se podría afirmar que existen variaciones en la estructura de estos bosques, que pueden deberse a la relación con las variables microclimáticas de cada uno, a las condiciones de humedad, elementos como los suelos, intensidad lumínica y la intervención antrópica, así como se ha registrado en otros estudios similares (Todzia 1986, Ter Steege 1989, Wolf 1994).

En general los municipios muestreados tienen diferentes grados de intervención, como la tala selectiva, y de esa manera la reducción de los parches de bosque, generado por el crecimiento de las prácticas agrícolas. Y en el caso de los ecosistemas no boscosos, como las sabanas, en ocasiones son sometidos a quemas periódicas, con la intención de favorecer el pastoreo del ganado en grandes extensiones o el enriquecimiento del suelo (Betancur y Garcia 2006; Alvarado et al., 2013) lo cual afecta la presencia de muchas especies de plantas.

De acuerdo con Betancur y Garcia (2006), y Carvajal- Cogollo y Rangel - Ch (2012) las especies encontradas, excepto *A. comosus* var. *Ananassoides* y *B. karatas*, se encuentran en la categoría Preocupación Menor (LC). Y hay registros de estas especies en los departamentos de la Región Caribe, excepto para la especie *A. comosus* var. *ananassoides*,

para el departamento de Sucre solo hay registro de las especies *T. flexuosa*, *T. recurvata* y *T. usneoides* (Rivera- Díaz y Rangel- Ch, 2012).

7.2 Caracterización morfológica de frutos y semilla

Las características morfológicas de las semillas en la familia Bromeliaceae son muy diversas, por lo que tienen una gran importancia sistemática a nivel intrafamiliar (Benzing, 1980). Las semillas de las especies estudiadas del género *Tillandsia* son pequeñas, fusiformes, y en la cubierta seminal poseen apéndices plumosos en el extremo micropilar (Fig. 6B, 7B, 8B, 9B). Estos apéndices se dividen longitudinalmente para formar muchos filamentos que conforman un plumaje que favorece eficazmente a la anemocoria (Smith 1934), lo cual representan una adaptación para facilitar la fijación en troncos y ramas de árboles, garantizando así, el suceso de dispersión en su hábito epifito (Pereira et al., 2008). Esta característica es representativa de la subfamilia Tillandsioideae (Moreira et al., 2006). Por otro lado, las semillas de *Bromelia* y *Ananas*, géneros de la subfamilia Bromelioideae son pequeñas, desprovistas de apéndices y envueltas por mucilago (Fig. 4B, 5B), que ayuda a la fijación de las semillas en lugares adecuados para una exitosa germinación (Pereira et al., 2008) y posiblemente previenen la desecación (Silva y Scatena, 2011). Resultados similares fueron observados en otros representantes de las subfamilias Bromelioideae y Tillandsioideae (Pereira 1988; Varadarajan y Gilmartin, 1988; Scatena et al., 2006; Pereira et al., 2008; Silva y Scatena 2011) y corroboran que la morfología representa un carácter importante en la diferenciación intrafamiliar.

Los datos morfométricos de *B. karatas* coinciden con lo reportado por Montes et al., (2014), quienes afirman que la longitud del fruto oscila de 9 a 12 cm y el diámetro de 17,5 a 17,9 mm, y en las semillas el diámetro varía en un rango de 3 a 4 mm. Los rangos de longitud de los frutos del género *Tillandsia* varían de 1.5 a 8 cm (Conap, 2010), y la longitud de la semilla es en promedio de 5 mm (Sosa-Luria et al., 2012), valores que coinciden con los datos morfométricos de las especies evaluadas.

7.3 Caracterización anatómica e histoquímica de semillas

El tegumento en las especies de la subfamilia Tillandsioideae posee dos capas de células y en Bromelioideae está compuesto por tres capas, que difieren en tamaño y forma. En todas las especies (exceptuando *T. usneoides* donde no se realizó la tinción con ATO) el tegumento presenta compuestos fenólicos. Estos compuestos le proporcionan impermeabilidad al tegumento y puede restringir el consumo de oxígeno (Bewley y Black 1994). En la especie *B. karatas* el tegumento presenta lignina, que también brinda impermeabilidad a las semillas, lo cual es probablemente una dificultad para alcanzar altos porcentajes de germinación como fue observado en este estudio. Esta impermeabilidad ejerce un efecto en la capacidad y velocidad de absorción de agua a través del tegumento (McDougall et al., 1996). La lignina es una mezcla de sustancias orgánicas que poseen altas concentraciones de carbono, les proporciona rigidez y resistencia a los tejidos, y está relacionada a la resistencia a daños mecánicos (Panobianco, 1997).

Según la clasificación de Cocucci (2005), las semillas de *Ananas*, *Bromelia* y *Tillandsia*, tienen una fórmula de 325, que indica que el embrión es uninodal (3) y tiene dos tipos de

reserva, en el endospermo (2) y embrionaria (5). Excepto, en la especie *T. recurvata* la fórmula es 35, puesto que tiene un embrión uninodal (3) y reservas que se acumulan solo en el embrión (5).

En muchas especies de monocotiledóneas se forma una capa similar a la epidermis en la periferia de endospermo, que es denominada capa de aleuronas (Kumamaru et al., 2007; Larkins y Vasil 1997). De acuerdo con esto, en los resultados obtenidos las células de la región periférica del endospermo forman una capa de aleuronas, lo que coincide con los resultados de Magalhães y Mariath (2012). Los compuestos presentes en esta capa como las proteínas están almacenados en cuerpos proteicos (Becraft 2007; Larkins y Vasil 1997). También posee compuestos como lípidos y pectinas. Según Stephen y Wiliams (2006), las sustancias peptídicas contribuyen a la adhesión entre células y a la fuerza de la pared celular. La región central del endospermo (parénquima) presenta reservas de carbohidratos como polisacáridos neutros y almidón. La capacidad para almacenar almidón es una característica asociada a los requerimientos de monocotiledóneas, incluidos los Poales (Hands et al., 2012), sin embargo, la cantidad de estas reservas varían según la especie.

Según Magalhães y Mariath (2012) la porción ocupada por el embrión en la semilla de bromelias es una característica para distinguir géneros. En los resultados obtenidos en este estudio el embrión de las especies de *Bromelia* es pequeño y ocupa entre 10 y 15% de la semilla, y, en *Tillandsia* el embrión ocupa de 30 a 100%. Estos resultados que coinciden con los de Gross (1988) y Magalhães y Mariath (2012). *Tillandsia* se considera como un género temprano divergente (Barfuss et al., 2005) y en estos taxones los embriones son grandes y el endospermo se encuentra reducido o ausente y las reservas se almacenan en el embrión, como lo observado en *T. recurvata* (Fig. 14A).

En *T. recurvata* y *T. usneoides* fue posible observar una serie de células estrechamente alargadas denominada procámbium, la presencia de estos haces vasculares, según Magalhães y Mariath (2012), indican que los embriones de *Tillandsia* están en una etapa avanzada de desarrollo en el momento en que la fruta está madura.

Las especies de *Tillandsia* estudiadas presentan una zona de constricción en el embrión, resultados similares obtuvieron Billings (1904), Cecchi- Fiordi et al., (1996), Morra et al., (2002) y Magalhães y Mariath (2012), observando una distinción en las células epidérmicas y corticales del eje hipocótilo-radicular y relacionando su presencia con las especies atmosféricas del género. La presencia o ausencia de esta zona de constricción, según Magalhães y Mariath (2012), es la diferencia más notable entre los géneros *Vriesea* y *Tillandsia*. De acuerdo con esto, la presencia de esta zona también representa una característica para la delimitación entre *Tillandsia* y los géneros *Ananas* y *Bromelia*.

7.4 Desarrollo post-seminal

Las especies del género *Tillandsia* estudiadas presentaron germinación epígea, marcada por la elevación de la base del cotiledón, y coincide con la germinación descrita en otras especies de la subfamilia Tillandsioideae (Scatena et al., 2006; Pereira et al., 2008, 2009; Silva y Scatena, 2011). Este tipo de germinación en esta subfamilia está relacionado con el epifitismo y la ausencia o poca presencia de haces vasculares en la vaina cotiledonar (Boyd, 1932; Pereira et al., 2008).

Tillich (2007) afirmó que en representantes de las Poales el cotiledón tiene parte foliácea y parte haustorial (de reserva), puesto que una parte emerge de los restos seminales por la

liberación de una vaina cotiledonar y otra permanece en el interior en contacto con el tejido de reserva. En Bromeliaceae el cotiledón no se desprende del tegumento de las semillas y permanece en el interior en contacto con el tejido de reserva, originando de esta forma plantas criptocotiledonares (Pereira et al., 2008). De acuerdo con Garwood (1996) el cotiledón haustorial es el encargado de la transferencia de las reservas del endospermo al embrión para el desarrollo de las plántulas, y puede considerarse como foliáceo, si emerge y se convierte en órgano fotosintetizador, lo que se observa en las especies de *Tillandsia* estudiadas, donde el cotiledón primero actúa únicamente como fuente nutricional y posteriormente obtiene función fotosintética (Sert et al., 2009; Doria, 2010); y, si el cotiledón solo tiene función haustorial y una parte permanece en el interior, se considera como cotiledón de reserva.

Scatena et al., (2006) y Silva y Scatena (2011) observaron que en las especies de *Tillandsia* la primera estructura en emerger es el cotiledón haustorial (Fig. 17A, 18A, 19A) y no la raíz primaria, debido a su hábito epifito éstas son ausentes y raramente presentan raíces rudimentarias para la fijación en los árboles. En estas especies los tricomas foliares son los encargados de la absorción de agua y nutrimentos (Pereira et al., 2008). En términos generales, la cantidad de raíces es inversamente proporcional a la densidad de tricomas, a la succulencia de las hojas y a la capacidad del tanque formado por la roseta foliar (Espejo-Serna, 2003). Contrariamente, en las especies terrestres como *B. karatas* hay desarrollo de raíces funcionales (Fig. 15C, D, E) (Paula y Silva, 2004). En la subfamilia Bromelioideae las raíces son las responsables de la absorción de agua y nutrientes (Benzing, 2000; Silva y Scatena, 2006) y los pelos absorbentes representan estructuras auxiliares, que garantizan el desarrollo en las especies terrestres y rupícolas (Smith y Downs, 1974). De acuerdo con Tillich (1995) la presencia de la raíz primaria en monocotiledóneas es probablemente un carácter ancestral,

y su ausencia representa uno de los últimos pasos evolutivos en este grupo. En el orden Poales ésta ha sido observada en la mayoría de las familias y en algunos representantes de la subfamilia Bromelioideae (Pereira, 1988; Pereira et al., 2008); sin embargo, la ausencia de esta ha sido evidenciada en especies de la subfamilia Tillandsioideae (Tillich, 1995; Scatena et al., 2006; Silva y Scatena, 2011), en este sentido esta característica podría ser muy importante y útil para la filogenia de Bromeliaceae, en la cual la subfamilia Tillandsioideae es considerada como un grupo derivado.

Los porcentajes de germinación son significativamente diferentes entre las especies estudiadas (Tabla 4), *T. elongata* y *T. flexuosa* presentaron altos porcentajes de germinación y plántulas formadas, diferentes significativamente a los porcentajes en *T. recurvata* y *B. karatas*. Los altos porcentajes de germinación de *T. elongata* y *T. flexuosa* coinciden con los obtenidos por Silva y Scatena (2011) en otros representantes del género. Según Pereira et al., (2008) los porcentajes de germinación por encima de 80% son indicativos de alta calidad fisiológica de las semillas, y por tanto tienen un alto potencial para la producción de plántulas, es decir, que el porcentaje de germinación es directamente proporcional al porcentaje de plántulas formadas. De acuerdo con esto, las especies *T. recurvata* y *B. karatas*, presentaron semillas con baja calidad fisiológica, evidenciado por los bajos porcentajes de germinación y la no formación de plántulas en el caso de *T. recurvata*, esto puede estar relacionados con sus características genéticas, baja proporción de semilla viable y/o latencia. Sin embargo, Fernández et al., (1989) evaluaron la germinación en semillas de *T. recurvata* recolectadas en diferentes épocas del año, y obtuvieron altos porcentajes de germinación en las semillas que fueron recolectadas próximas al periodo de dehiscencia natural, contrariamente las semillas que fueron recolectadas tres meses antes perdieron bruscamente la viabilidad, dadas

las escasas reservas, estas semillas no pueden entrar en un periodo de dormancia sino que pierden totalmente la viabilidad. De acuerdo con esto, la baja germinación en las semillas de *T. recurvata* evaluadas es dada por el tiempo de recolección del material, y en el caso de *B. karatas* los bajos porcentajes pueden estar relacionados con la presencia de lignina en el tegumento, la cual proporciona impermeabilidad a las semillas (McDougall et al., 1996).

Pereira et al., (2008) clasifican las semillas en rápidas (tiempo medio <7 días), intermedias (tiempo medio > 7 <14 días) y lentas (tiempo medio >14 días), teniendo en cuenta esto *T. flexuosa* y *T. elongata* se consideran rápidas, *T. recurvata* intermedia y *B. karatas* lenta. Pereira (1988) y Pereira et al., (2008) encontraron resultados diferentes para Bromelioideae, en sus estudios las especies de esta subfamilia se caracterizaron por ser rápidas, y en el caso de las especies de Tillandsioideae fueron categorizadas como intermedias, lo que concuerda únicamente con los valores presentados por *T. recurvata*, esto puede estar influenciado por las condiciones (luz, temperatura, humedad) usadas. La luz, ecológicamente es un factor importante (Valencia -Díaz et al., 2007; Sosa, 2011), y un gran número de especies de bromelias requieren de esta para germinar. Independientemente de los requerimientos necesarios de cada especie, las radiaciones cíclicas o la luz continua promueven la germinación en muchas bromelias, afectando la velocidad de germinación (Sosa, 2011). Por otro lado, la germinación siempre depende de la temperatura, y esta afecta tanto el porcentaje como la tasa de germinación, la cual se reduce a temperaturas bajas, pero aumenta paralelamente con el incremento de la temperatura (Sosa, 2011). Finalmente, la disponibilidad de humedad es considerado como el factor más importante (Benzing, 2000). Las especies de *Tillandsia* requieren condiciones de humedad para germinar y sobrevivir en la etapa de plántula, por esta razón, la mayoría de estas especies libera sus semillas un poco

antes de la época de lluvias, asegurando la disponibilidad de humedad para las primeras fases de crecimiento (Valencia -Díaz et al., 2007; Sosa, 2011).

8. CONCLUSIONES

- El género *Tillandsia* fue el que mayor número de especies presentó, coincidiendo con registros en otros ecosistemas de bosque seco.
- A pesar de padecer impactos antrópicos en el área de los municipios de Chalán y Ovejas, estos poseen zonas en buen estado de conservación, lo que favorece el alto número de especies registradas.
- Los resultados presentados demuestran que la morfo-anatomía de las semillas y el desarrollo post-seminal en Bromeliaceae constituyen herramientas útiles para estudios taxonómicos y ecológicos. Se pueden considerar caracteres relevantes para delimitar subfamilias y géneros: a) La morfología de los frutos, en *Tillandsia* los frutos son cápsulas dehiscentes, que se diferencian claramente de *Ananas* y *Bromelia* que presentan frutos compuestos y en baya respectivamente. b) La morfología de las semillas, en Tillandsioideae las semillas son fusiformes provistas de apéndices y en Bromelioideae son ovoides a subglobosas sin apéndices cubiertos con una capa de mucílago. c) La presencia de una zona de constricción en el embrión, presente en las semillas de *Tillandsia*, ausente en las de Bromelioideae. d) La presencia de compuestos fenólicos en la capa de aleuronas, presente en la especie del género *Ananas* y ausente en las especies de *Bromelia* y *Tillandsia*.
- La cantidad de endospermo resulta un carácter diferenciativo entre las especies del género *Tillandsia*; abundante en *T. elongata* y *T. flexuosa*, escaso en *T. usneoides* y ausente en *T. recurvata*.
- El desarrollo post-seminal representa un carácter determinante en la diagnosis entre las subfamilias, presentando diferencias en sus estructuras esenciales. Entre las subfamilias

estudiadas las especies de Tillandsioideae se diferencian de Bromelioideae y las características diagnosticas son la raíz primaria, presente en *Bromelia* y ausente en *Tillandsia*.

- Los caracteres relevantes identificados permitieron realizar una clave taxonómica, la cual potencialmente facilita la identificación de las especies de bromelias presentes en el departamento de Sucre (Anexo 2).

9. RECOMENDACIONES

- Hacer recorridos más exhaustivos que abarquen todo el departamento para determinar la totalidad de especies presentes de la familia Bromeliaceae.
- Realizar estudios que incluyan más especies de Bromeliaceae para tener una visión más amplia de las características morfo-anatómicas e histoquímicas que delimiten taxonómicamente a la familia.
- Realizar pruebas de germinación con semillas recién recolectadas en periodos cercanos a la dehiscencia natural, y con variaciones en las condiciones de luz y temperatura.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilera, M. (2005). *La economía del departamento de sucre: ganadería y sector público*. Banco de la República, Cartagena- Colombia.
- Aguirre-Santoro, J., y Betancur, J., (2008). Sinopsis del Género *Aechmea* (Bromeliaceae) para Colombia. *Caldasia* 30(2):265-288
- Aguirre- Santoro, J., y Betancur, J. (2011a). Cinco especies nuevas de *Aechmea* (Bromeliaceae: Bromelioideae) para Colombia. *Brittonia*, 63(2), 300-313
- Aguirre-Santoro, J., y Betancur, J. (2011b). Cinco nuevas bromelias engrosan lista de especies de flora. *Unimedios*: Universidad Nacional de Colombia.
- Aguirre-Santoro, J., Betancur, J., y Holst, B. (2015). Three New Additions to the Guayana Shield-endemic Steyerbromelia (Bromeliaceae) for Colombia with Comments on the Problematic Generic Delimitation within the Subfamily Navioideae. *Systematic Botany*, 40(3): 737–745
- Alin, G., y Milaneze, M., (2008). Anatomía vegetativa de *Bromelia antiacantha* Bertol. (Bromeliaceae, Bromelioideae). *Balduinia*, 13, 1-14.
- Alvarado-Fajardo, V., Morales, M., y Larrota, E. (2013). Bromeliaceae en algunos municipios de Boyacá y Casanare, Colombia. *Rev. Acad. Colomb. Cienc*, 37 (142), 5-18.

- Annaselvam, J., y Parthasarathy, N. (2001). Diversity and distribution of herbaceous vascular epiphytes in a tropical evergreen forest at Varagalaia, Western Ghats, India. *Biodiversity and Conservation* 10, 317–329.
- Anastácio, M., y Santana, D. (2010). Características germinativas de sementes de *Ananas ananassoides* (Baker) L. B. Sm. (Bromeliaceae). *Actascibiolsci* 32(2), 195-200.
- APG – Angiosperm Phylogeny Group. (2017). An update of the Angiosperm Phylogeny Group. Recuperado de <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>
- Araújo – Neto, J., Aguiar, I., Ferreira, V., y Paula, R.(2002). Caracterização morfológica de frutos e sementes e desenvolvimento pós-seminal de monjoleiro (*Acacia polyphylla* DC.). *Revista Brasileira de Sementes*, 24(1), 203-211.
- Barfuss. M., Samuel, R., Till, W., y Stuessy, T. (2005) Phylogenetic relationships in subfamily Tillandsioideae (Bromeliaceae) based on DNA sequence data from seven plastid regions. *Am J Bot*, 92, 337–351.
- Barroso, G., (1999). *Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas* (Tesis). Ed. UFV, Univ. Federal de Viçosa, 25-31.
- Bartholomew, D., Paull, R., y Rohrbach, K. (2002). *The Pineapple: botany, production and uses*. University of Hawaii at Manoa. CABI Publishing. Honolulu. USA. 301pp.
- Becraft, P. (2007). Aleurone cell development. En: Olsen AO (ed), *Endosperm: development and molecular biology*. Springer, Berlin.

- Belotto, E., Souza, L., Paraluppi, A., Furtado, A., Gaspi, F., y Pedroso, C. (2014). Caracterização anatômica, histoquímica e de classes de metabólitos secundários de folhas de *Guzmania lingulata* (L.) Mez. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, 16, 127-134.
- Beltrati, C., y Paoli, A. (2013). Semente. En: Apezato-da-Glória, B. y Carmello-Guerreiro, S. (Eds), *Anatomía vegetal*. Viçosa, 3 Ed. Editora UFV.
- Beltrati, C. (1992). *Morfologia e anatomia de sementes*. Rio Claro: UNESP, Depto. de Botânica/Instituto de Biociências, 108 pp.
- Benzing, D. (1980). *The biology of the Bromeliads*. Mad River Press.
- Benzing, D. (2000). *Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation*. Cambridge University Press.
- Betancur, J. (1991). *Hohenbergia Andina* (Bromeliaceae), Nueva especie del noroccidente de Colombia. *Caldasia*, 16 (79), 425-428.
- Betancur, J. (1992). *Streptocalyx poeppigii* (Bromeliaceae) en Colombia. *Caldasia*, 17 (1), 179.
- Betancur, J. (1995). Bromelias De Colombia: Una Especie Nueva De *Pitcairnia*. *Caldasia*, 17 (82), 379-382.
- Betancur, J., y Callejas, R. (1997). Sinopsis del género *Puya* (Bromellaceae) en el Departamento de Antioquia. *Caldasia* 19(1-2), 71-82.
- Betancur, J., y Jaramillo, M. (1998). Distribución de la familia Bromeliaceae en dos vertientes andinas del sur de Colombia. *Selbyana*, 19(1):52-65.

- Betancur, J., y García, N. (2006). Las bromelias. En: García, N., y Galeano, G. (eds.). *Libro Rojo de Plantas de Colombia. Volumen 3: Las bromelias, las labiadas y las pasifloras*. Serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Bogotá, Colombia. Instituto Alexander von Humboldt - Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia - Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Pp. 51-384.
- Betancur, J., y Salinas, N. (2006). El Ocaso De *Pseudaechmea* (Bromeliaceae: Bromelioideae). Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. *Caldasia*, 28(2):157-164.
- Betancur, J., y Jiménez, N. (2015). *Pitcairnia Huilensis*: Una Atractiva Bromeliácea Nueva De Colombia. *Caldasia*, 37(1), 91-98.
- Betancur, J. (2017). *Catálogo de plantas y líquenes de Colombia*. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. <http://catalogoplantasdecolombia.unal.edu.co>
- Bewley, D., y Black, M. (1994). *Seeds: Physiology of Development and Germination*. Plenum Press, New York and London.
- Bewley, J., Bradford, K., Hilhorst, H., y Nonogaki, H. (2013). *Seeds: physiology of development, germination and dormancy*. Springer. Third Edition. P 392.
- Billings, FH. (1904). A study of *Tillandsia usneoides*. *Bot Gaz*, 38, 99–121
- Black, M., Bewley, D., y Halmer, P. (2006). *The Encyclopedia of Seeds. Science, Technology and Uses*. CAB International, Wallingford, UK.

- Bonnet, A., Ribas, G., Galvão, F., y Kozera, C. (2010). Diversidade e distribuição espacial de Bromeliáceas epifíticas do altíssimo rio Tibagi-Paraná-Brasil. *Floresta*, 40(1), 71-80.
- Boyd, L. (1932). Monocotylous seedlings. Morphological studies in the post-seminal development of the embryo. *Transactions and Proceedings of the Botanical Society of Edinburgh*, 31, 5-224.
- Briggs, C., Morris, E., y Ashford, A. (2005). Investigations into seed dormancy in *Grevillea linearifolia*, *G. busifolia* K y *G. sericea*: anatomy and histochemistry of seed coat. *Annals of Botany*, 96 (6), 965-980.
- Cach-Pérez, M., Andrade, J., y Reyes-García, C. (2014). La susceptibilidad de las bromeliáceas epifitas al cambio climático. *Botanical Sciences* 92(2), 157-168.
- Calderón-Arias, A., Restrepo-Gómez, A., y Urrea-Trujillo, A. (2011). Morfogénesis in vitro a partir de yemas apicales y bases de hojas de las especies de bromelias *Aechmea veitchii* y *Racinaea crispa*. *Actual Biol*, 33 (94), 17-33.
- CarSucre (2014) Plan de acción frente al fenómeno de “el niño” 2014 - 2015. Sincelejo-Sucre.
- Carvajal-Cogollo, J., y Rangel-Ch, J. (2012). Amenazas a la biota y a los ecosistemas de la región Caribe de Colombia. pp851-878. En: Rangel Ch J. (2012) *Colombia: Diversidad biótica XII: La región Caribe de Colombia*. Universidad Nacional de Colombia.
- Castellani, E., Filho, C., de Aguiar, I., y de Paula, R. (2008). Morfología de frutos e sementes de espécies arbóreas do gênero *Solanum* L. *Revista Brasileira de Sementes*, 30 (1), 1-20.

- Cecchi-Fiordi, A., Palandri, M., Tani, G., y Di Falco, P. (1996). Cytological aspects of the hypocotyl correlated to the behavior of the embryo radicle of *Tillandsia* atmospheric species. *Caryologia*, 49, 113-124.
- Cecchi-Fiordi, A., Palandri, M., Turicchia, S., Tani, G., y Di Falco, P. (2001). Characterization of the seed reserves in *Tillandsia* (Bromeliaceae) and ultrastructural aspects of their use at germination. *Caryologia* 54, 1-16.
- Cocucci, A. (2005). Morphogenetic seed types of Spermatophyta. *Plant Syst Evol* 250:1–6
- Corner, E. (1976). *The Seeds of dicotyledons*. Cambridge: Cambridge. University Press. v. 1, 552p.
- Corredor, J., Schmidt, E., Steinmacher, D., Guerra, M., Bouzon, Z., Dal Vesco, L., y Pescador, R. (2014). Seed morphology of *Vriesea friburgensis* var. *paludosa* L.B. Sm. (Bromeliaceae). *Hoehnea* 41(4), 553-562.
- Costa, A., Proença Da Cunha, A. (2000). *Farmacognosia–Farmacognosia experimental*. 3ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.
- Dores, R. (2007). *Histoquímica de Dimorphandra mollis Benth*. Tese (Doutorado), Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Doria, J. (2010). Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos Tropicales*, 31 (1), 74-85.
- Éder, S., Leonardo, P., y Riselane, A. (2006). Citogenética de algumas espécies frutíferas nativas do Nordeste do Brasil. *Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal*, 29 (1), 110-114.

- Espejo, A., López, R., y Ramírez, I. (2005). Flora de Veracruz: Bromeliaceae. México D.F.(México): *Cromocolor*, 307 pp.
- Espejo-Serna, M. (2003). Sistemática del complejo de especies de *Tillandsia plumosa* Baker (Tillandsioideae: Bromeliaceae). (Tesis).
- Espejo-Serna, M., Lopez-Ferrari, A., y Ramirez-Morillo, I. (2005). Bromeliaceae. México. *Flora Veracruzana*, (136).
- Espejo-Serna, A., López-Ferrari, A., y Ramirez-Morillo, I. (2010). Bromeliaceae. Flora del Bajío y de regiones adyacentes.
- Fernandes, H., (2013). Caracterização de frutos, histoquímica e qualidade fisiológica de sementes de pimenta durante a maturação. (Tesis), Pós-Graduação em Fitotecnia Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais – Brasil.
- Fernandez, L., Beltrano, J., y Caldiz, D. (1989). Germinación y longevidad de semillas de *Tillandsia recurvat* L. *Revista de la facultad de agronomia*, 65(1), 81-85.
- Ferreira, A., y Borghetti, F. (2004). Germinação: Do Básico ao Aplicado. São Paulo: *Artmed*, 323 p.
- Ferreira, E., Fernandes, I., y Resende, M. (2009). Morfologia de frutos e sementes e desenvolvimento pósseminar de *Dyckia goehringii* Gross y Rauh (Bromeliaceae). *Rev. Biol. Neotrop*, 6(1), 1-12.
- Ferreira, N., y Araujo, J. (2010). Morphoanatomy and ontogeny of fruit in Bromeliaceae species. *Acta bot. bras.* 24(3), 765-779.

- Ferreira, N. (2013). Desenvolvimento estrutural e dinâmica de constituintes químicos no gineceu de *Billbergia nutans* h. Wendl. Ex regel (Bromelioideae- Bromeliaceae). (Tesis).
- Ferreira, R., Botelho, S., Davide, A., y Malavasi, M. (2001). Morfologia de frutos, sementes, plântulas e plantas jovens de *Dimorphandra mollis* Benth.-faveira (Leguminosae- Caesalpinioideae). *Revista brasileira de botânica. São Paulo*, 24 (3), 303-309.
- Fisher, D. (1968). Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. *Histochemie*, 16, 92-96.
- Forbis, T., Floyd, S., y Queiroz, A. (2002). The evolution of embryo size in angiosperms and other seed plants: implications for the evolution of seed dormancy. *Evol*, 56, 2112-2125.
- García, J., y Toledo, T. (2008). Epífitas vasculares: bromelias y orquídeas. Pp. 69-82. En: Manson, R., Hernández-Ortiz, V., Gallina, S., y Mehlreter, K. (Eds.). *Agroecosistemas cafetaleros de Veracruz biodiversidad, manejo y conservación*.
- Garwood, N. (1996). Functional morphology of tropical tree seedlings. Pp. 59-129. En: Swaine, M. (ed.). *The ecology of tropical forest tree seedlings*.
- Gersbach, P., Wyllie, S., y Sarafis, S. (2001). A new histochemical method for localization of the site of monoterpene phenol accumulation in plant secretory structures. *Annals of Botany*, 88 (4), 521-525.
- Givnish, T., Millam, K., Berry, P., y Systma, K. (2007). Phylogeny, adaptive radiation and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from ndhF sequence data. *Aliso*, 23, 3-26.

- Granados-Sánchez, D., López-Ríos, G., Hernández-García, M., y Sánchez-González, A. (2003). Ecología De Las Plantas Epífitas. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 9(2), 101-111.
- Greeney, H. (2001). The insects of plant-held waters: a review and bibliography. *Journal of Tropical Ecology*, 17, 241-260.
- Gross, E. (1988). Bromelienstudien IV. Zur Morphologie der Bromeliaceen-Samen unter Berücksichtigung Systematisch-taxonomischer Aspekte. *Tropische und Subtropische Pflanzenwelt*, 64, 415-625.
- Gunn, C. (1981). Seed topography in the Fabaceae. *Seed Science and Technology, Zürich*, 9, (3), 737-757.
- Hands, P., Kourmpetli, S., Sharples, D., Harris, R., y Drea, S. (2012). Analysis of grain characters in temperate grasses reveals distinctive patterns of endosperm organization associated with grain shape. *Journal of Experimental Botany*, 63, 6253-6266.
- Herbario Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis (<http://colecciones.jbb.gov.co/herbario/especimen/simple>).
- Herbario Universidad Nacional de Colombia (<http://www.biovirtual.unal.edu.co/es/>)
- Isaza, C., Betancur, J., y Estévez-Varón, J. (2004). Vertical distribution of bromeliads in a montane forest in the eastern cordillera of the Colombian Andes. *Selbyana*, 25(1), 126-137.

- Isaza, C., y Betancur, J. (2009). Relación entre la biomasa y algunas características morfológicas de las bromelias fitotelmatas de un bosque alto andino colombiano. *Caldasia*, 31(1), 1-7.
- Jiménez, F., Gómez, D., y Ruano, C. (2009). *Adaptaciones de las plantas vasculares epífitas al ambiente*. México.
- Johansen, D. (1940). *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Books: New York.
- Kitching, R. (2000). *Food Webs and Container Habitats: The Natural History and Ecology of Phytotelmata*. Cambridge University Press, New York. 431pp.
- Krahl¹, A., Holanda¹, A., Krahl, D., Corrêa, M., Oliveira¹, R., y Valsko, J. (2013). Anatomia foliar de *Ananas lucidus* Mill. (Bromeliaceae). *Natureza on line*, 11 (4), 161-165.
- Kumamaru, T., Ogawa, M., Satoh, H., y Okita, T. (2007). Protein body biogenesis in cereal endosperms. En: Olsen OA (ed) *Endosperm: development and molecular biology*. Springer, Berlin, pp 141–158.
- Kuniyoshi, Y. (1983). Morfologia da semente e da germinação de 25 espécies arbóreas de uma floresta com Araucaria. Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- Larkins, B., y Vasil, I. (1997). Cellular and molecular biology of plant seed development. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands
- Lawrence G. (1973) Taxonomia das plantas vasculares. Lisboa: Fundação Caluste Gulbekian, 1, 296 pp.

- Leimbeck, R., y Balslev, H. (2001). Species richness and abundance of epiphytic Araceae on adjacent floodplain and upland forest in Amazonian Ecuador. *Biodiversity and Conservation*, 10, 1579–1593.
- Lemos, F., y Maciel, Z. (2008). Fenologia e biologia floral de *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae) na caatinga paraibana. *Rodriguésia*, 59(4), 835-844.
- Luther, H. (2008). *An alphabetic list of Bromeliad Binomials. The Marie Selby Botanical Gardens*. 11 ed. Bromeliad Society International, Sarasota.
- Machado, C., y Semir, J. (2006). Fenologia da floração e biologia floral de bromeliáceas ornitófilas de uma área da Mata Atlântica do Sudeste brasileiro. *Revista Brasileira de Botânica*, 29(1), 163-174.
- Magalhães, R., y Mariath, J. (2012). Seed morphoanatomy and its systematic relevance to Tillandsioideae (Bromeliaceae). *Plant. Syst. Evol.* 298, 1881–1895.
- Maguire, J. (1962). Speed of germination aid selection and evaluation for seedling emergence and vigour. *Crop Science*, 2, 176-177.
- Marcos, Filho, J. (2005). *Fisiología de las plantas cultivadas*. Piracicaba: FEALQ. 495 pp.
- Martinelli, G., Magalhães, C., Gonzalez, M., Leitman, P., Piratininga, A., Ferreira, A., y Campostrini, R. (2008). Bromeliaceae da Mata Atlântica Brasileira: lista de espécies, distribuição e conservação. *Rodriguésia*, 59 (1), 209-258
- Mcdougall, G., Morrison, I., Stewart, D., y Hillman, J. (1996). Plant cell walls as dietary fibre: range, structure, processing and function. *Journal Science Food Agriculture*, 70 (2), 133 – 150.

- Moise, J., Han, S., Gudynaite, S., Johnson, D., y Miki, B. (2005). Seed coats: structure, development, composition, and biotechnology. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, 41, 620–644.
- Mondragón, D., (2002). Dinámica poblacional de *Tillandsia brachycaulos* Schltdl. en el Parque Nacional de Dzibilchaltún, Yucatán. (Tesis doctoral). Mérida, México, Centro de Investigación Científica de Yucatán, AC (CICY).
- Monte, D. (2009). Caracterização anatômica e histoquímica de mentas infectadas por *Puccinia menthae* e *Erysiphe biocellata*. (Tesis) Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho.
- Mora, F., Chaparro, H., Vargas, O., y Bonilla, M., (2007). Dinámica de la germinación, latencia de semillas y reclutamiento de plántulas en *Puya cryptantha* y *P. trianae*, dos rosetas gigantes de los páramos colombianos. *Ecotropicos*, 20(1), 31-40
- Moreira, B., Wanderley, M., y Cruz-Barros, M. (2006). Bromélias: importância ecológica e diversidade e taxonomia e morfologia. Instituto de Botânica – IBt. São Paulo.
- Morra, L., Dottori, N., y Cosa, M. (2002). Ontogenia y anatomia de semilla y fruto en *Tillandsia tricholepis* (Bromeliaceae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 37, 193-201.
- Negrelle, R., Mitchell, D., y Anacieta, A. (2012). Bromeliad ornamental species: conservation issues and challenges related to commercialization. *Maringá*, 34 (1), 91-100.

- Nunes, L., y Pires, R. (2014). Biogênese de substâncias de reserva durante a microsporogênese e microgametogênese em *Dyckia distachya* Hassl. (Pitcairnioideae, Bromeliaceae).
- O'Brien, T., Feder, N., y McCully, M., (1964). Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma*, 59, 367-373.
- O'Brien, T., y McCully, M. (1981). *The study of plant structure: principles and selected methods*. (Termarcaphi PTY. LTD: Melbourne.
- Oliveira, N., Azevedo, S., Silva, M., Pereira, A., Pires, M., y Sousa, G. (2013). Caracterização Da Anatomia Foliar De Espécies De Bromeliaceae Ocorrentes Em Pedro II, PI. 64º Congresso Nacional de Botânica. Belo Horizonte.
- Ospina-Bautista, F., Estévez, J., Betancur, J., y Realpe, E. (2004). Invertebrados acuáticos asociados a *Tillandsia turneri* Baker (Bromeliaceae) en un bosque altoandino (Cundinamarca, Colombia). *Acta Zoológica Mexicana*, 20(1), 153-166.
- Ospina-Bautista, F., Estévez, J., Varón, J., Realpe, E., y Gast, F., (2008). Diversidad de invertebrados acuáticos asociados a Bromeliaceae en un bosque de montaña. *Revista Colombiana de Entomología*, 34(2), 224-229.
- Palací, C., Brown, G., y Tuthill, D. (2004). The seeds of *Catopsis* (Bromeliaceae: Tillandsioideae). *Syst Bot*, 29, 518–527.
- Panobianco, M. (1997). Variação na condutividade elétrica de sementes de diferentes genótipos de soja e relação com o conteúdo de lignina no tegumento. (Tesis) Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

- Paula, C., y Silva, H. (2004). *Cultivo prático de bromélias*. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa
- Pearse, A. (1972). *Histochemistry: theoretical and applied*. (The Williams y Wilkins Company: Baltimore) (2) 3.
- Pereira, T. (1988). Bromelioideae (Bromeliaceae): morfologia do desenvolvimento pós-seminal de algumas espécies. *Arquivo do Jardim Botânico do Rio de Janeiro*, 29, 115-154.
- Pereira, A., Pereira, T., Rodrigues, Â., y Andrade, Â.(2008). Morfologia de sementes e do desenvolvimento pós-seminal de espécies de Bromeliaceae. *Acta bot. Bras*, 22(4), 1150-116215.
- Pereira, A., Andrade, A., Pereira, T., Forzza, T., y Rodrigues, A. (2009). Comportamento germinativo de espécies epífitas e rupícolas de Bromeliaceae do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasil. Bot*, (32)4,827-838.
- Pereira, A., Andrade, A., Pereira, T., Forzza, T., y Rodrigues, A. (2010). Morphological aspects of seed, germination and storage of *Pitcairnia albiflos* (Bromeliaceae). *Seed Sci. y Technol*, 38, 79-87.
- Pico, A. (2016). Conservación ex situ de *Puya loca* Madriñan (Bromeliaceae) y registro de una segunda localidad en los páramos de Colombia. *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat*, 40(157), 637-643.
- Proença, S., y Graças, M. (2007). Anatomia foliar de bromélias ocorrentes em áreas de cerrado do Estado de São Paulo, Brasil. *Acta bot. Bras*, 21(3), 657-673.

- Probert, R. (2010). El papel de la temperatura en la regulación de la latencia y germinación de las semillas. En: Fenner, M. (Ed.), *Semillas: la ecología de la regeneración en comunidades vegetales* (pp. 261-292).
- Reis, A., y Mariot, A. (2001). Diversidade natural e aspectos agronômicos de plantas medicinais. En: Simões, C., Chenkel, E., Gosmann, G., Mello, J., Mentz, L., y Petrovick, P. (eds.), *Farmacognosia da planta ao medicamento*. pp. 39-60.
- Rios, P., Neto, J., Ferreira, V., y Das Neves, M. (2016). Seed morphometry and germination of *Aechmea costantinii* (Mez) L. B. Sm. (Bromeliaceae). *Rev. Caatinga*, 29 (1), 85–93.
- Rivera-Díaz, O., y Rangel-Ch, O. (2012). Diversidad de espermatofitos de la región Caribe Colombiana. P199-317. En: Rangel Ch, J. (2012). *Colombia: Diversidad biótica XII: La región Caribe de Colombia*. Universidad Nacional de Colombia.
- Rogalski, J., Reis, A., Sedrez, M., y Hmeljevski, K. (2009). Biología reproductiva da reófito *Dyckia brevifolia* Baker (Bromeliaceae), no Rio Itajaí-Açu, Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasil. Bot*, 32 (4), 691-702.
- Royal Botanic Gardens Kew (<https://www.kew.org/science/collections/herbarium>)
- Sandoval, E. (2005). *Técnicas aplicadas al estudio de la anatomía vegetal*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México
- Scatena, V., Segecin, S., y Coan, A. (2006). Seed Morphology and Post-Seminal Development of *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) from the “Campos Gerais”, Paraná, Southern Brazil. *Brazilian archives of biology and technology an international journal* 49(6), 945-951.

- SIB. Sistema de información sobre Biodiversidad de Colombia. (2016)
<https://www.sibcolombia.net/>
- Silva, I., y Scatena, V. (2011). Morfologia de sementes e de estádios iniciais de plântulas de espécies de Bromeliaceae de Amazônia. *Rodriguésia*, 62 (2).
- Silva, K., Alves, E., Alcântara, R., Matos, V., y Gonçalves, E. (2008). Morfologia de frutos, sementes, plântulas e plantas de *Erythrina velutina* Willd., Leguminosae–Papilionideae. *Revista Brasileira de Sementes*, 30 (3), 104-114.
- Siqueira, J., y Machado, I. (2001). Biología reproductiva de *Canistrum aurantiacum* E. Morren (Bromeliaceae) em remanescente da floresta Atlântica, nordeste do Brasil. *Acta bot. Bras*, 15(3), 427-443.
- Sert, M., Bonato, C., y Souza, L. (2009). Germinação da semente. En: Souza, L. (2009). *Sementes e plântulas: germinação, estrutura e adaptação*. Ponta Grossa, PR: Todapalavra.
- Sliwinska, E., y Bewley, D. (2014). *Overview of Seed Development, Anatomy and Morphology*. CAB International Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities, 3rd Edition (ed. R.S. Gallagher)
- Smith, L. (1934). Geographical evidence on the lines of evolution in the Bromeliaceae. *Bot. Jahrb. fur Systematik*, 66, 446-468.
- Smith, B., y Down, R. (1974). Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica*, 14, 1-658.
- Smith, B., y Down, R. (1977). Tillandsioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica*, 14, 663-1492.

- Smith, B., y Down, R. (1979) Bromelioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica*, 14, 1493-2142.
- Smith, B., y Downs, R. (1979). *Bromelia plumieri*. *Flora Neotropica*, 14(3), 1681–1682.
- Sobrinho, S., y Siqueira, A. (2008). Caracterização morfológica de frutos, sementes, plântulas e plantas jovens de mutamba (*Guazuma ulmifolia* Lam. Sterculiaceae). *Revista Brasileira de Sementes*, 30 (1), 1-12.
- Sosa, D. (2011). Efecto de las condiciones de almacenamiento en la germinación de semillas de *Tillandsia* spp. (Bromeliaceae). (Tesis) Instituto Politécnico Nacional. Oaxaca-Mexico.
- Sosa, D., Chávez, J., Mondragón, D., Estrada, J., y Ramírez, P. (2012). Viabilidad y Germinación de Semillas de Seis Especies de *Tillandsia* (Bromeliaceae) de Oaxaca, México. *Rev. Fitotec. Mex*, 35 (5), 37–42.
- Souza, L., Moscheta, I., Mourão, K., Albiero, A., Montanher, D., y Paoli, A. (2009). Morfologia da plântula e do tirodendro. En: Souza, L. (2009). *Sementes e plântulas: germinação, estrutura e adaptação*, 119-189.
- Souza, L., y Paoli, A., (2009). Estructura da semente. En: Souza L. (2009). *Sementes e plântulas: germinação, estrutura e adaptação*, 15-86.
- Stephen, A., Phillips, G., y Wiliams, P. (2006). Food Polysaccharides and their applications. *London: Taylor y Francis*, 733.
- Stuessy, E. (1991). Plant Taxonomy. The evolution of comparative data. New York: Columbia University Press. 514 pp.

- Taiz, L., y Zeiger, E. (2009). *Fisiología Vegetal*. 4 ed. Porto Alegre: Artmed. 819 p.
- Takaki, M. (2001). Nueva propuesta de clasificación de semillas basada en formas de fitoquoma en lugar de fotoblastismo. *Rev. Bras. Fisiol. Veg*, 13, 104-108.
- Ter Steege, H., y Cornelissen, H. (1989). Distribution and ecology of vascular epiphytes in lowland rain forest of Guyana. *Biotropica*, 21(4), 331–339.
- The Field Museum (<https://plantidtools.fieldmuseum.org/en/rrc>).
- Tillich, H. (1995). Seedlings and systematics in monocotyledons. Pp. 303-352. In: P.J. Rudall, P., Cribb, P., Cutler, D., y Humphries, C. (eds.). *Monocotyledons: systematics and evolution*. Kew, Kew Botanic Garden.
- Tillich, H. (2007). Seedling diversity and the homologies of seedling organs in the order Poales (Monocotyledons). *Annals of Botany*, 100, 1413-1429.
- Todzia, C. (1986). Growth habits, host tree species and density of hemiepiphytes on Barro Colorado Island, Panama. *Biotropica*, 18(1), 22–27.
- Tropicos (<http://www.tropicos.org>).
- Vadillo, G., Suni, M., y Cano, A. (2004). Viabilidad y germinación de semillas de *Puya raimondii* Harms (Bromeliaceae). *Rev. peru. Biol*, 11(1), 71- 78.
- Valencia, S., Zapata, E., Jiménez, A., y Flores, A. (2007). Factores ambientales que influyen en la germinación de semillas de orquídeas y bromelias epifitas. *Biótica*, 4, 15-26.
- Varadarajan, G., y Gilmartin, A. (1988). Taxonomic realignments within the subfamily Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *Syst. Bot*, 13, 294-299.

- Ventrella, M., Almeida, A., Nery, L., y Coelho, V. (2013). *Métodos histoquímicos aplicados às sementes*. Universidade Federal de Viçosa.
- Viana, P. (2007) .Morfologia, Anatomia E Desenvolvimento Pós-Seminal de Cinco Espécies de Bromeliaceae. (Bromeliaceae). (Tesis) Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Disponible en: <http://hdl.handle.net/11449/105112>.
- Wanderley, M., y Martins, S. (2007). Bromeliaceae En: Melhem, T., Wanderley, M., Martins, S., Jung-Mendaçolli, S., Shepherd, G., y Kirizawa, M. (eds.) *Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo*. Instituto de Botânica. 5, 39-162.
- Winkler, M., Hülber, K., y Hietz, P. (2005). Effect of Canopy Position on Germination and Seedling Survival of Epiphytic Bromeliads in a Mexican Humid Montane Forest. *Annals of Botany*, 95, 1039–1047.
- Weyler, F., (1843). *Elementos de botánica o descripción anatómica o fisiológica de todas las partes de las plantas, de sus diferentes funciones y sus principales métodos de clasificación*. Palma.
- Wolf, J. (1994). Factors controlling the distribution of vascular and non-vascular epiphytes in the northern Andes. *Vegetatio*, 112, 15–28.



Anexo 1

Guía práctica:

INFILTRACIÓN DE MATERIAL VEGETAL EN PARAFINA, PREPARACIÓN DE COLORANTES Y PROCEDIMIENTO PARA TINCIONES

Estudiantes: Kesmy Lidueña - Adriana Martelo

Docentes: Jenny Corredor - Ruth Quiroga

Universidad de Sucre

Departamento de biología y química

Programa de Biología

Grupo de investigación Ecofisiología

INFILTRACIÓN DE MATERIAL VEGETAL EN PARAFINA

Preparación general de las láminas:

1. Fijación y deshidratación
2. Pre-infiltración – Diafanización- Aclaración
3. Inclusión en parafina
4. Emblocar
5. Microtoma

1. Fijación y deshidratación:

Fijación con FAA:

- Formol (37%) 5 Ml
- Ácido acético glacial 5 mL
- Etanol (70%) 90 mL

Deshidratación:

- Alcohol etílico 80% I - 30 minutos
- Alcohol etílico 80% II - 30 minutos
- Alcohol etílico 90% I - 30 minutos
- Alcohol etílico 90% II - 30 minutos
- Alcohol etílico 96% I - 30 minutos
- Alcohol etílico 96% II - 30 minutos
- Alcohol etílico 100% I - 30 minutos
- Alcohol etílico 100% II - 30 minutos

2. Pre-infiltración – Diafanización- Aclaración:

- Xilol I – 30 Minutos
- Xilol II - 30 Minutos

3. Inclusión en parafina (en estufa a 58°C)

- Xilol-Parafina. 12 Horas
- Parafina I. 4 Horas.
- Parafina II - 4 horas
- Parafina III – Emblocar

4. Emblocar

- Colocar la parafina en las cajas de papel y colocar la muestra de acuerdo con el tipo de corte que va a realizar (usar pinza)
- Usar la placa refrigeradora para solidificar la parafina
- Esperar mínimo 24 horas para pegarlos a los bloques de madera
- Dejarlos en la nevera por algunas horas o hasta el momento de ser cortados.

5. Microtomía

- Colocar la cuchilla en el micrótomó
- Preparar el “baño de flotación”. Colocar 3 gr de gelatina sin sabor para 1 litro de agua destilada a 45°C.
- Traer el bloque y realizar los cortes. Extenderlos al depositarlos en el baño de flotación. Emplear pinzas o pincel fino, para desarrugarlos totalmente.
- “Pescar” el corte y dejar las láminas en estufa a 50°C por 40 minutos (para derretir la parafina y adherir el corte).

6. Desparafinar

Laminas en cubetas de vidrio con Xilol (temperatura ambiente)

- Xilol I: 10 min
- Xilol II: 10 min

PREPARACIÓN DE COLORANTES Y PROCEDIMIENTO PARA LAS TINCIONES

❖ AZUL DE TOLUIDINA (ATO)

(Método original: O'Brien et al., 1964)

Identificación de celulosa, compuestos fenólicos, pectinas y mucilago.

Preparación:

Azul de toluidina 0.05%

Azul de toluidina..... 0,05 g

Agua destilada, completar.....100 mL

Procedimiento:

- Desparafinar los cortes en xilol 2X (10 min.)
- Dejar secar
- Colocar los cortes desparafinados en Azul de Toluidina (8 min.)
- Lavar con agua destilada 3X (30 seg.)
- Dejar secar
- Sellar las placas con Entellan

❖ SUDÁN III

(Método original: Pearse, 1972)

Identificación de lípidos.

Preparación:

Sudán III en etanol 70%.

Sudán III3g

Etanol 70%..... 100mL

Calentar hasta que la solución entre en ebullición.

Dejar enfriar.

Filtrar, sólo utilice el sobrenadante de la solución.

Procedimiento:

Cortes en fresco

- Colocar los cortes en solución de Sudan III (20 min.) en un recipiente cerrado (evitando la evaporación del solvente y la formación de precipitados)
- Lavar rápidamente en etanol 70%
- Lavar rápidamente en agua destilada.
- Montar en medio hidratado (agua destilada)

❖ REACTIVO DE SCHIFF/ ÁCIDO PERIÓDICO (PAS)

(Método original: O'Brien y McCully, 1981)

Identificación de polisacáridos neutros.

Preparación:

Solución A: Ácido Periódico 0,5% (mantener refrigerado)

Ácido periódico..... 0,5g

Agua destilada.....100mL

Solución B: Reactivo de Schiff (se debe mantener refrigerado en oscuridad)

Reactivo de Schiff.....100 mL

Procedimiento:

- Desparafinar los cortes en xilol 2X (10 min.)
- Dejar secar
- Colocar los cortes desparafinados en Ácido Periódico (15 min.)
- Recuperar el Ácido Periódico
- Lavar en agua del grifo (10 min.) dejando caer gota a gota.
- Colocar los cortes en Reactivo de Schiff (15 min.) en oscuro
- Recuperar el Reactivo de Schiff
- Lavar en agua del grifo (10 min.) dejando caer gota a gota.
- Dejar secar
- Sellar las placas con Entellan

❖ LUGOL

(Método original: Johansen, 1940)

Almidón.

Preparación:

Yodo..... 0,3 g

Yoduro de potasio..... 1,5 g

Agua destilada.....100 ml

Procedimiento:

- Desparafinar los cortes en xilol 2X (10 min.)
- Dejar secar
- Colocar los cortes desparafinados en Lugol (8 min.)
- Lavar rápidamente con agua destilada
- Dejar secar
- Sellar las placas con Entellan

❖ AZUL DE COOMASSIE

(Método original: Fisher, 1968)

Proteínas

Preparación:

Azul brillante de Coomassie 0,25% en ácido acético 7%.

Coomassie bright blue R250..... 0,25 g

Ácido acético 7%.....100 mL

Procedimiento:

- Desparafinar los cortes en xilol 2X (10 min.)
- Dejar secar
- Colocar los cortes desparafinados en Azul de Coomassie (3 min.)
- Lavar rápidamente con solución Clarck (25 mL de ácido acético + 75 mL de etanol 95%)
- Lavar rápidamente con agua destilada
- Dejar secar
- Sellar las placas con Entellan

❖ ROJO DE RUTENIO.

(Método original: Johansen, 1940).

Pectinas

Preparación:

Solución acuosa de rojo de rutenio 0,002%.

Rojo de rutenio..... 0,002 g

Agua destilada.....10 mL

Agite la solución en agitador magnético, hasta la completa disolución del reactivo.

Procedimiento:

- Desparafinar los cortes en xilol 2X (10 min.)
- Dejar secar
- Colocar los cortes desparafinados en Rojo de Rutenio (10 min.)
- Lavar rápidamente con agua destilada
- Dejar secar
- Sellar las placas con Entellan

❖ FLOROGLUCINA ÁCIDA

(Método original: Johansen, 1940).

Compuestos fenólicos estructurales (ligninas)

Preparación:

Solución A: Floroglucina 2% (Se debe mantener refrigerada)

Floroglucina 1.9 g

Etanol 95% 100mL

Solución B: Ácido clorhídrico 25%

Ácido clorhídrico 37%..... 68 mL

Agua destilada 32 mL

Procedimiento:

Cortes en fresco

- Colocar los cortes en la solución A (5 min.) en un recipiente cerrado
- Retirar el exceso
- Colocar los cortes en la solución B (5 min.) en un recipiente cerrado
- Retirar el exceso con papel absorbente
- Montar en medio hidratado (agua destilada)
- Observar inmediatamente, porque la reacción es efímera.

❖ CLORURO FÉRRICO

(Método original: Johansen, 1940).

Compuestos fenólicos no estructurales.

Preparación:

Solución acuosa de cloruro férrico 10%.

Cloruro férrico III.....10 g

Agua destilada.....10 mL

Agite la solución en agitador magnético, hasta la completa disolución del reactivo.

Procedimiento:

- Desparafinar los cortes en xilol 2X (10 min.)
- Dejar secar
- Colocar los cortes desparafinados en Cloruro Férrico (30 min.)
- Lavar rápidamente con agua destilada
- Dejar secar
- Sellar las placas con Entellan



Referencias bibliográficas.

Fisher D. (1968) Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. Histochemie 16:92-96.

Johansen DA (1940) 'Plant microtechnique.' (McGraw-Hill Books: New York).

O'Brien T, Feder N y McCully M. (1964) Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. Protoplasma 59:367-373

O'Brien T y McCully M. (1981) 'The study of plant structure: principles and selected methods.' (Termarcaphi PTY. LTD: Melbourne.

Pearse A. (1972) 'Histochemistry: theoretical and applied. Vol.2' 3^a ed. (The Williams y Wilkins Company: Baltimore).

Anexo 2

CLAVE TAXONÓMICA DE BROMELIACEAE EN EL DEPARTAMENTO DE SUCRE

- 1. Semillas fusiformes..... 2
- 1'. Semillas no fusiformes.....3
- 2. Semillas albuminosas.....4
- 2'. Semillas no albuminosas..... *T. recurvata*
- 3. Semillas ovoides recubiertas de mucílago, con presencia de compuestos fenólicos en la capa de aleuronas..... *A. comosus var. ananassoides*
- 3'. Semillas subglobosas, con un cúmulo de células grandes e isodiamétricas en la región adyacente al embrión..... *B. karatas*
- 4. Endospermo abundante5
- 4'. Escaso endospermo..... *T. usneoides*
- 5. Semillas con <50 mm y fruto maduro con <60 mm de longitud..... *T. flexuosa*
- 5'. Semillas con >30 mm y fruto maduro con >60 mm de longitud.... *T. elongata*