



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO
POSTGRADO DE EDAFOLOGÍA

**ESTUDIOS ANATÓMICOS, FISIOLÓGICOS
Y NUTRIMENTALES DE SEMILLAS DE HELICONIAS**

LIZETH BENÍTEZ DOMÍNGUEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2010

La presente tesis, titulada **Estudios anatómicos, fisiológicos y nutrimentales de semillas de heliconias**, realizada por la alumna **Lizeth Benítez Domínguez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS
EDAFOLOGÍA
CONSEJO PARTICULAR**

CONSEJERO:

DR. FERNANDO CARLOS GÓMEZ MERINO

ASESORA:

DRA. LIBIA IRIS TREJO-TÉLLEZ

ASESORA:

DRA. ALEJANDRINA ROBLEDO PAZ

Montecillo, Texcoco, México. Abril de 2010

DEDICATORIA

A Dios por estar conmigo cuando más te he necesitado, me dabas el confort en las caídas, ayudándome a superar mis temores y a enfrentar las adversidades, te estaré eternamente agradecida por el aliento que pusiste en mí y las ganas de seguir en este camino.

A mis Padres Eva y Paulino, por ser parte fundamental en mi formación, ser los pilares que me sostienen, al mostrarme lo bueno y lo malo y hacer de mí la hija que han deseado, por estar en mis tristezas y derrotas, alentándome a seguir y concluir las metas que nos hemos propuesto, por aplaudir todo lo que he logrado, ser los guías en este camino, nadie nace sabiendo cómo ser padres pero para mí ustedes son los mejores, gracias Mamá y Papá.

A mis Hermanos Félix, mi amigo, compañero en las buenas y en las malas, ese niño que me critica y me hace crecer y llegar a la verdad, mi confidente. Paul, mi lado más vulnerable, mi pequeño, eres más importante para mí de lo que piensas, el que a pesar de ser tan serio me hace reír y escaparme un instante de este mundo, los amo con todo mi corazón hermanitos.

A mis Abuelos, por ser el pilar que aun nos sostienen, por creer en mí y demostrarme su cariño y amor todos los días, son mi mayor admiración los adoro.

Aarón gracias por llegar a mi vida, aun falta mucho pero siento que podemos integrarnos como pareja, te amo.

Agradecimientos

A CONACYT por el apoyo otorgado para llevar a cabo mis estudios de postgrado.

Al Colegio de Postgraduados agradezco todas las facilidades brindadas en mi desarrollo profesional y por la oportunidad de seguir mi formación académica.

Al COMECYT, por el apoyo otorgado para concluir esta investigación.

Al Dr. Fernando Carlos Gómez-Merino, por su incondicional apoyo, y la enorme comprensión hacia mí, por su amistad y confianza que depositó, el ser parte fundamental en esta investigación y conducir este trabajo, no me queda más que decirle Mil gracias.

A la Dra. Libia Iris Trejo-Téllez, por el tiempo brindado en la presente investigación, por la enorme paciencia en la fase experimental, y las aportaciones y sugerencias.

A la Dra. Alejandrina Robledo-Paz, por su asesoría, disponibilidad y enriquecimiento en la presente investigación, por la entereza en el laboratorio, y compartir sus conocimientos conmigo, por las valiosas sugerencias, además de brindarme su confianza y amistad, muchas gracias.

A la Línea Prioritaria de Investigación 5 *Biotecnología microbiana, vegetal y animal* del Colegio de Postgraduados, por las facilidades otorgadas en equipo e instrumental que fueron de vital importancia en la investigación.

Al Dr. Gerardo Leyva Mir, por el apoyo y las facilidades proporcionadas en el laboratorio de Micología del Departamento de Parasitología Agrícola de la **Universidad Autónoma Chapingo**, por ser parte importante en la fase de identificación de patógenos, mi gratitud y respeto.

A la Dra. Ana María Castillo González, por su asesoría y disponibilidad en el laboratorio de Nutrición de Frutales de la **Universidad Autónoma Chapingo**.

A la Biol. Greta Hanako Rosas Saito, por su valioso apoyo en la parte de microscopía, ya que sin tu ayuda no hubiera concluido esa fase de la investigación y brindarme tu amistad, confianza y buenos deseos.

Al MC. Jorge Valdez Carrasco, por compartir sus conocimientos y ser muy tenaz en el diseño de imágenes, por sus aportaciones y sugerencias en la toma de fotografías.

A todos aquellos profesores que compartieron sus conocimientos conmigo y al personal de los laboratorios de Nutrición Vegetal y Microscopia Electrónica del Colegio de Postgraduados, por el apoyo y amistad recibidos en la realización de este proyecto.

A mis amigos, y compañeros de generación: Ana María, Edmundo, Manuel Salaya, José Luis Zárate, Juan Mendoza, Ana Luisa, Celia y Leopoldo, porque con ellos pasé los mejores momentos en mi estancia en el Colegio, ya que sin su ayuda, apoyo y amistad no hubiera logrado este paso más en mi vida, por los buenos y malos momentos que hicieron que se fortaleciera cada vez mas nuestra amistad, los amo.

A la familia Flores González, por dejarme ser parte de sus vidas y ocupar un espacio muy importante en la mía.

CONTENIDO	Página
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
CAPÍTULO I	1
I. INTRODUCCIÓN GENERAL	2
I.1. ANTECEDENTES	2
I.2. HELICONIAS	4
I.3. SEMILAS DE HELICONIAS	10
I.4. PROPAGACIÓN Y NUTRICIÓN DE HELICONIAS	12
1.4.1 Propagación de heliconias	12
1.4.2 Nutrición de heliconias	13
I.5. OBJETIVO Y ALCANCES DE LA INVESTIGACIÓN	15
I.6. LITERATURA CITADA	16
CAPÍTULO II	19
II. ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DE SEMILLAS DE HELICONIAS	20
II.1. INTRODUCCIÓN	20
II.2. OBJETIVO GENERAL	21
II.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
II.4. HIPÓTESIS GENERAL	22
II.5. HIPÓTESIS ESPECÍFICA	22
II.6. MATERIALES Y MÉTODO	22
II.6.1. Material biológico	22
II.6.2. Análisis de la permeabilidad de semillas	23

	Página
II.6.3. Estudios anatómicos	23
II.6.4. Determinación del contenido de ácido abscísico en semillas	24
II.6.5. Análisis del contenido de nutrimentos en semillas	25
II.6.6. Escarificación y germinación <i>in vitro</i> de semillas	25
II.6.7. Establecimiento aséptico del cultivo	26
II.6.8. Germinación y contaminación de semillas	27
II.6.9. Diseño experimental y análisis estadístico de los datos	27
II.7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
II.7.1. Permeabilidad de las semillas	28
II.7.2. Anatomía y morfología de semillas	30
II.7.3. Contenido de ácido abscísico en semillas	42
II.7.4. Contenido de nutrimentos en semillas	44
II.7.5. Porcentaje de germinación de las semillas	51
II.7.6. Presencia de patógenos en semillas	56
II.8. CONCLUSIONES	64
II.9. LITERATURA CITADA	66
 CAPÍTULO III	 71
III. ESTABLECIMIENTO HIDROPÓNICO Y NUTRICIÓN DE PLANTAS	
DE <i>Heliconia psittacorum</i>	72
III.1. INTRODUCCIÓN	72
III.2. OBJETIVOS	75
III.3. HIPÓTESIS	75
III.4. MATERIALES Y MÉTODO	75
III.4.1. Ubicación y condiciones del sitio experimental	75
III.4.2. Obtención del material biológico	76
III.4.3. Establecimiento de plantas en sustrato	76

	77
III.4.4. Soluciones nutritivas	78
III.4.5. Variables evaluadas	78
III.4.6. Análisis estadístico	78
III.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	79
III.5.1 Altura de planta	80
III.5.2 Volumen de raíz	81
III.5.3 Número de hojas	83
III.5.4 Concentración nutrimental en hoja	83
III.6. CONCLUSIONES	83
III.7. LITERATURA CITADA	84

ÍNDICE DE CUADROS

Página

CAPÍTULO I

Cuadro I.1	Países con mayor diversidad de plantas superiores.	4
------------	--	---

CAPÍTULO II

Cuadro II.1	Tratamientos de escarificación en semillas de heliconias para su establecimiento <i>in vitro</i> .	26
Cuadro II.2.	Porcentaje de germinación <i>in vitro</i> de semillas de cinco especies de heliconias tratadas con diferentes métodos de escarificación.	53

CAPÍTULO III

Cuadro III.1	Concentración de la solución nutritiva universal de Steiner (Steiner, 1984).	76
Cuadro III.2	Comparación de las concentraciones nutrimentales en vástago de plantas de <i>Heliconia psittacorum</i> establecidas en hidroponía con dos concentraciones de la solución Steiner, a los 30 ddt y en plátano.	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO I

Figura I.1.	Distribución de la biodiversidad en el planeta.	3
Figura I.2.	Familias de plantas que conforman el Orden Zingiberales.	5
Figura I.3.	Inflorescencias de diferentes especies y cultivares de heliconias.	6
Figura I.4.	Distribución geográfica del género <i>Heliconia</i> .	7
Figura I.5.	Especies de heliconias nativas de México.	9
Figura I.6.	Fruto y semilla típica de una heliconia.	10

CAPÍTULO II

Figura II.1.	Permeabilidad de semillas de <i>Heliconia psittacorum</i> inmersas en una solución de azul de metileno durante cinco semanas.	29
Figura II.2.	Órganos reproductivos sexuales y morfología de <i>Heliconia bourgaeana</i> .	31
Figura II.3.	Anatomía de las semillas de <i>Heliconia bourgaeana</i> .	32
Figura II.4.	Órganos reproductivos sexuales y morfología de <i>Heliconia collinsiana</i> .	33
Figura II.5.	Anatomía de las semillas de <i>Heliconia collinsiana</i> .	34
Figura II.6.	Órganos reproductivos sexuales y morfología de <i>Heliconia latispatha</i> .	35
Figura II.7.	Anatomía de las semillas de <i>Heliconia latispatha</i> .	36
Figura II.8.	Órganos reproductivos sexuales y morfología de <i>Heliconia psittacorum</i> .	37
Figura II.9.	Anatomía de las semillas de <i>Heliconia psittacorum</i> .	38
Figura II.10.	Órganos reproductivos sexuales y morfología de <i>Heliconia rostrata</i> .	42
Figura II.11.	Concentraciones de ácido abscísico (ABA) en semillas de cinco especies de heliconias.	42
Figura II.12.	Porcentaje de nitrógeno (N) en semillas de cinco especies de heliconias.	44
Figura II.13.	Contenido de fósforo (P) en semillas de cinco especies de heliconias.	46
Figura II.14.	Contenido de potasio (K) en semillas de cinco especies de heliconias.	47
Figura II.15.	Contenido de calcio (Ca) en semillas de cinco especies de heliconias.	47
Figura II.16.	Contenido de magnesio (Mg) en semillas de cinco especies de heliconias.	48

	Página
Figura II.17. Contenido de hierro (Fe) en semillas de cinco especies de heliconias.	49
Figura II.18. Contenido de cobre (Cu) en semillas de cinco especies de heliconias.	50
Figura II.19. Contenido de zinc (Zn) en semillas de cinco especies de heliconias.	50
Figura II.20. Contenido de manganeso (Mn) en semillas de cinco especies de heliconias.	51
Figura II.21. Contenido de boro (B) en semillas de cinco especies de heliconias.	51
Figura II.22. Porcentaje de germinación de semillas de cinco especies de heliconias.	52
Figura II.23. Hongos fitopatógenos del género <i>Aspergillus</i> en semillas de heliconias.	57
Figura II.24. Hongos fitopatógenos del género <i>Fusarium</i> en semillas de heliconias.	58
Figura II.25. Hongos fitopatógenos del género <i>Mucor</i> en semillas de heliconias.	59
Figura II.26. Hongos fitopatógenos de los géneros <i>Nigrospora</i> y <i>Pythium</i> en semillas de heliconias	60
Figura II.27. Hongos fitopatógenos del género <i>Rhizoctonia</i> en semillas de heliconias.	61
Figura II.28. Hongos del género <i>Trichoderma</i> en semillas de heliconias.	62

CAPÍTULO III

Figura III.1. Altura de plantas de <i>Heliconia psittacorum</i> crecidas en solución de Steiner al 50 y 100%.	79
Figura III.2. Volumen de raíz de <i>Heliconia psittacorum</i> crecidas en solución de Steiner al 50 y 100%.	80
Figura III.3. Número de hojas <i>Heliconia psittacorum</i> crecidas en solución de Steiner al 50 y 100%.	81

RESUMEN

Las heliconias son especies que desempeñan importantes funciones en los ecosistemas y que tienen un valor comercial alto debido a sus vistosas inflorescencias. Estas especies normalmente se reproducen de manera asexual y su producción se reduce a manejos tradicionales, por lo que existen pocos estudios de sus semillas y del manejo nutrimental de las plantas para elevar su producción. En esta investigación se hicieron estudios anatómicos, fisiológico y nutrimentales de cinco especies de heliconias: *Heliconia bourgaeana*, *H. collinsiana*, *H. latispatha*, *H. psittacorum* y *H. rostrata*. Las semillas de estas especies resultaron impermeables al agua. En *H. collinsiana* y *H. latispatha* los embriones se encontraron bien desarrollados y sin daños después de un año de almacenamiento; por el contrario, se observó destrucción de tejidos en *H. bourgaeana* y *H. psittacorum*. En las especies evaluadas se detectaron taninos y almidón en endospermo, pero la abundancia de taninos fue mayor en *H. bourgaeana* y *H. psittacorum*. El contenido de ABA fue mayor en *H. collinsiana* ($7.8 \mu\text{g g}^{-1}$ MS), y las demás especies presentaron $0.26 \mu\text{g g}^{-1}$ MS o menos. El contenido de Ca, Mg, Fe, Zn, Mn y B también fue mayor en *H. collinsiana*, mientras que las menores concentraciones de P, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn y B las tuvo *H. psittacorum*. Después de 85 días, la germinación in vitro fue de 32, 30, 18 y 2% para *H. psittacorum*, *H. collinsiana*, *H. bourgaeana* y *H. latispatha*, respectivamente. El crecimiento de plántulas de *H. psittacorum* en soluciones nutritivas de Steiner al 50 y 100% no afectó la concentración nutrimental en hojas, pero sí hubo mayor volumen de raíz y número de hojas en plantas crecidas con 50% de esta solución nutritiva. Se concluye que el primer factor limitativo para la germinación de semillas de heliconias es la composición de su testa que las hace impermeable, y que después de un año de almacenamiento éstas presentan diferentes niveles de desarrollo embrionario, consumo de sustancias de reserva del endospermo, presencia de taninos y de almidón, contenido de ABA y de nutrimentos, según la especie, y que la solución nutritiva de Steiner al 50% puede ser una alternativa para su producción en cultivos sin suelo.

Palabras clave: Heliconiaceae, embrión, endospermo, ácido abscísico, nutrimentos.

ABSTRACT

Heliconias are species that perform important roles in ecosystems and that reach high commercial values due to their colorful inflorescences. These species are normally reproduced by asexual means and its production is reduced to traditional managements, and therefore a few studies on seeds and nutrimental management to increase their production have been carried out so far. In this research we conducted anatomical, physiologival and nutrimental studies of five heliconia species: *Heliconia bourgaeana*, *H. collinsiana*, *H. latispatha*, *H. psittacorum* and *H. rostrata*. Seeds of these five species were impermeable to water. In *H. collinsiana* and *H. latispatha* embryos were found well developed and without damages after a year of storage; conversely, disruption of such tissues were observed in *H. bourgaeana* y *H. psittacorum*. Tannines and starch in endosperm were present in seeds of all species evaluated, but abundance was higher in *H. bourgaeana* and *H. psittacorum*. ABA content was higher in *H. collinsiana* ($7.8 \mu\text{g g}^{-1}$ MS), and the other species showed $0.26 \mu\text{g ABA g}^{-1}$ MS or less. Ca, Mg, Fe, Zn, Mn and B were higher in *H. collinsiana*, whereas the lowest levels of P, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn and B were seen in *H. psittacorum*. Eighty-five days after sowing, *in vitro* germination was 32, 30, 18 y 2% for *H. psittacorum*, *H. collinsiana*, *H. bourgaeana* and *H. latispatha*, respectively. Plantlet growth of *H. psittacorum* in Steiner's nutrient solutions at 50 y 100% did not affected nutrient concentration in leaves, although a higher root volume and more leaves per plant were produced in plants grown at 50% of the nutrient solution. We conclude that the first limiting factor for heliconia seed germination is the chemical composition of their seed coat, as it is impermeable to water, and that after a year of storage, these seeds showed different levels of embryo development, storage substances consumption, presence of tannins and starch, ABA content and nutrients, according to each species, and that the Steiner's nutrient solution at 50% may be an alternative to produce these species without soil.

Key words: Heliconiaceae, embryo, endosperm, abscisic acid, nutrients.

CAPÍTULO I

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

I.1. ANTECEDENTES

Las heliconias son un componente distintivo de la biodiversidad característica de México. Biodiversidad se refiere a la variabilidad de la vida y abarca tres niveles de expresión: ecosistemas, especies y genes. Esta diversidad se expresa en los diferentes tipos de ecosistemas, el número de especies, el cambio de riqueza de especies de una región a otra, el número de especies endémicas, las subespecies y variedades o razas de una misma especie (CONABIO, 1998).

El Convenio sobre Diversidad Biológica (CDB) establece que por "diversidad biológica se entiende la variabilidad de organismos vivos de cualquier fuente, incluidos, entre otros, los ecosistemas terrestres y marinos y otros ecosistemas acuáticos y los complejos ecológicos de los que forman parte; comprende la diversidad dentro de cada especie, entre las especies y de los ecosistemas" (CDB, 1992).

La biodiversidad no se distribuye de manera homogénea en el planeta; en general, las regiones tropicales albergan las más altas concentraciones de biodiversidad. Sin embargo, si se considerara a la riqueza de especies como un indicador para comparar la diversidad biológica entre diversos países, se encontraría que un grupo reducido de éstos tiene representado hasta un 70% de las especies conocidas en el planeta. A estos países se les conoce como países megadiversos y entre ellos está México, junto con Australia, Brasil, China, Colombia, Congo, Ecuador, Estados Unidos, Filipinas, India, Indonesia, Malasia, Madagascar, Perú, Papúa-Nueva Guinea, Sudáfrica y Venezuela (Mittermeier *et al.*, 1997) (**Figura I.1**). Entre los principales criterios utilizados para definir a estos 17 países está el grado de endemismo, haciendo un análisis del endemismo vegetal, principalmente de plantas superiores, y de representantes del reino animal, entre los cuales se consideraron cuatro grupos de vertebrados: aves, mamíferos, reptiles y anfibios.

Otros criterios que se utilizaron para determinar la megadiversidad fueron la variedad de especies, de categorías taxonómicas superiores, de ecosistemas terrestres, de ecosistemas marinos y la presencia de ecosistemas forestales tropicales húmedos (estos últimos, conocidos por su alta riqueza de especies a escala mundial).

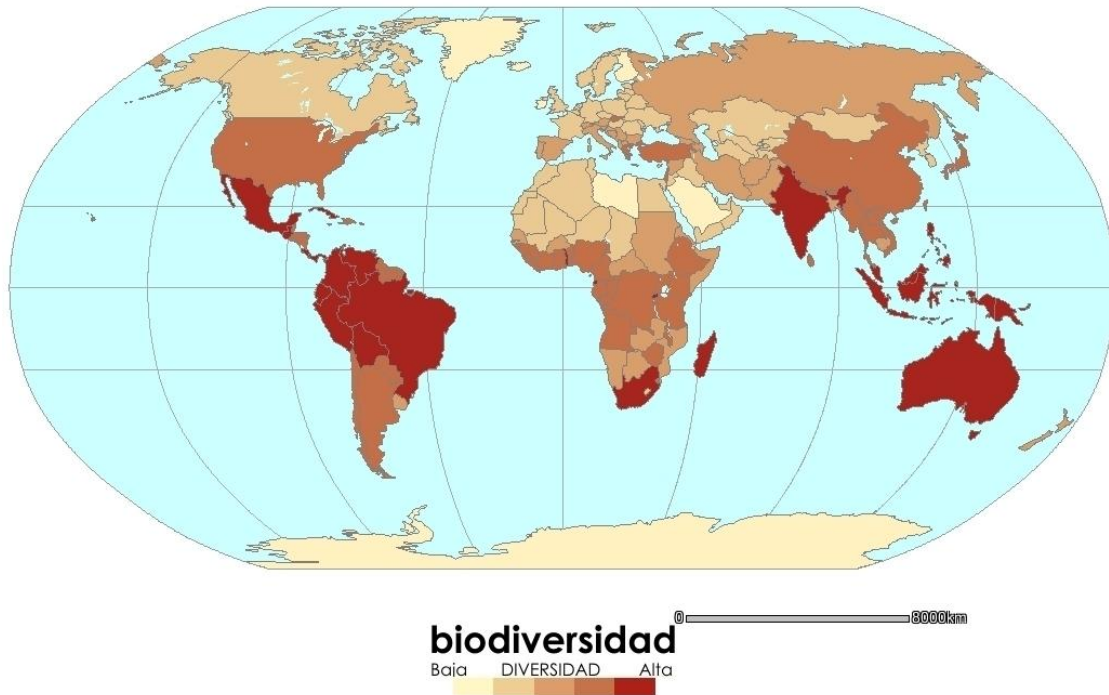


Figura I.1. Distribución de la biodiversidad en el planeta. Las regiones con megadiversidad son indicadas en rojo. El mapa fue tomado de la dirección <http://www.sagan-gea.org>.

En México se localizan 26 000 especies de plantas superiores del planeta, lo que equivale al 10% de la totalidad (Mittermeier *et al.*, 1997) (Cuadro I.1), y más de 40% de ellas son habitantes exclusivas del territorio nacional, es decir, son especies endémicas. Muchos grupos de plantas se han diversificado en nuestro territorio; de ahí que existan ecosistemas con numerosos endemismos, un elemento adicional que da cuenta de la importancia de nuestro país desde el punto de vista de su biodiversidad.

Cuadro I.1. Países con mayor diversidad de plantas superiores.

Plantas superiores	Países				
	Brasil	Colombia	Indonesia	China	México
Número de especies	53 000	48 000	35 000	28 000	26 000

La mayor concentración de la diversidad de plantas en México se encuentra en Chiapas y Oaxaca y se prolonga por un lado al centro de Veracruz y por el otro a Sinaloa y Durango. La proporción de taxa endémicos en México se aproxima al 10% en el caso de géneros y 52% en especies, lo cual es indicativo de que el territorio nacional ha sido sitio de origen y de evolución de un gran número de linajes vegetales (Rzedowski, 2006; Vázquez-García, 2005). El bosque mesófilo y el bosque tropical perennifolio son los más diversos por unidad de superficie (Vázquez-García, 2005). En estos hábitats se han desarrollado una gran diversidad de especies exóticas, dentro de las que se encuentran las heliconias, especies que son muy apreciadas por los vistosos colores de sus inflorescencias.

I.2.HELICONIAS

Las heliconias pertenecen a la familia Heliconiaceae dentro del Orden de las Zingiberales (**Figura I.2**). El Orden Zingiberales (previamente llamado Scitamineae), está compuesto por ocho familias separadas (Cannaceae, Costaceae, Heliconiaceae, Lowiaceae, Marantaceae, Musaceae, Strelitziae y Zingiberaceae) y más de 2000 especies. La mayor parte de estas ocho familias son nativas de regiones tropicales del mundo y muchas son cultivadas como ornamentales (Berry y Kress, 1991).

La familia Heliconiaceae comprende un único género: *Heliconia*, representado por plantas herbáceas, de hojas simples, enteras y dísticas; sus inflorescencias son terminales, erectas o péndulas, pedunculadas, con raquis erecto o sinuoso; las espatas son dísticas a helicoidales, ciatiformes o cimbiformes, con brácteas envolventes; las flores son hermafroditas y asimétricas, con cinco estambres

ditécicos, y estaminidio único; ovario ínfero, óvulos solitarios en cada lóculo; la placentación es basal o axilar; el estilo es solitario; el fruto es una drupa (Gutiérrez-Báez, 2000).

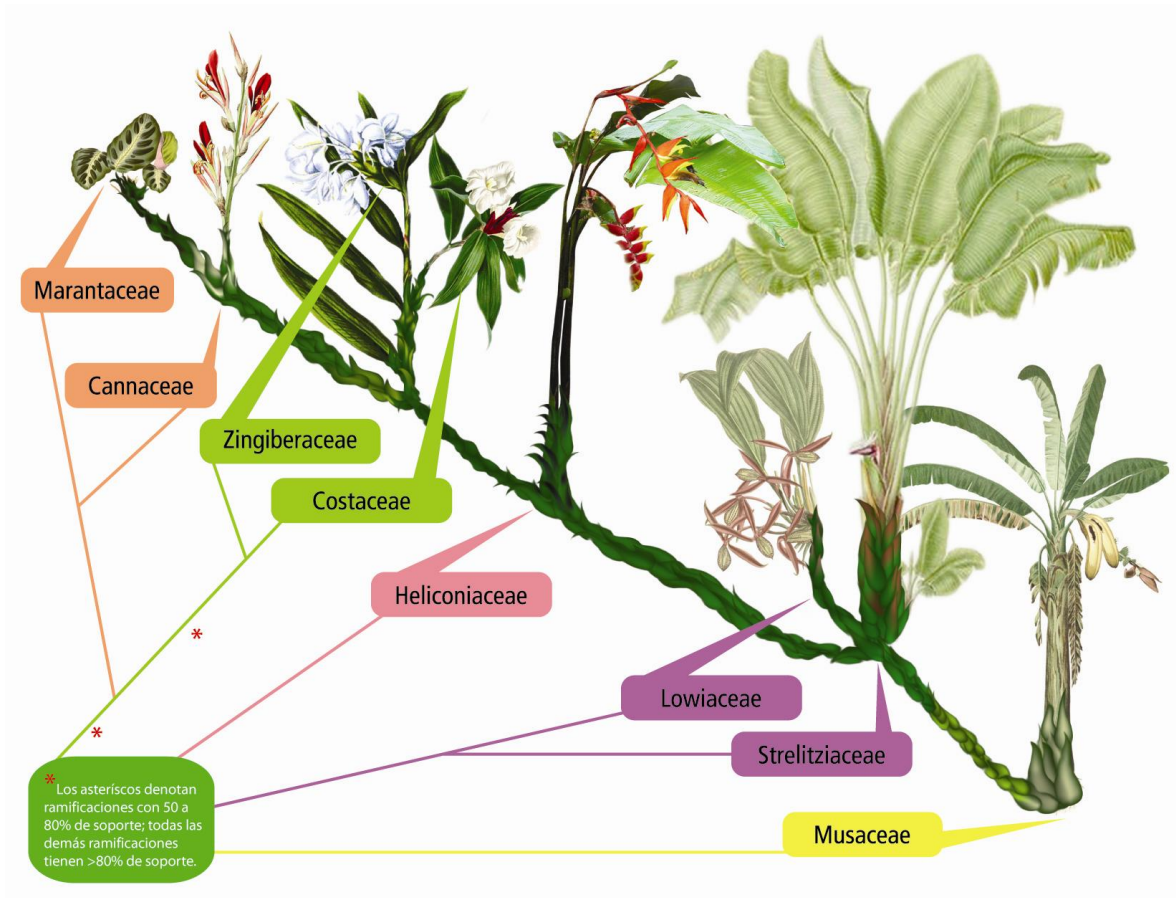


Figura I.2. Familias de plantas que conforman el Orden Zingiberales. El Orden Zingiberales comprende las familias Cannaceae, Costaceae, Heliconiaceae, Lowiaceae, Marantaceae, Musaceae, Strelitziaceae y Zingiberaceae (adaptado de Berry y Kress, 1991).

El género *Heliconia* quizás comprenda más de 225 especies, de las cuales solo 180 han sido descritas (Jerez, 2007). Las características distintivas de esta familia incluyen flores invertidas, presencia de un estaminoide simple, así como el desarrollo de frutos en forma de drupa tipo durazno. Actualmente, muchas especies, variedades y cultivares son producidas como plantas de maceta y flores de corte (Figura I.3).



Figura I.3. Inflorescencias de diferentes especies y cultivares de heliconias. Consulta en el banco de imágenes de AgroTropical disponible en la dirección <http://www.heliconias.net/heliconiasmosaicoheliconias.html>.

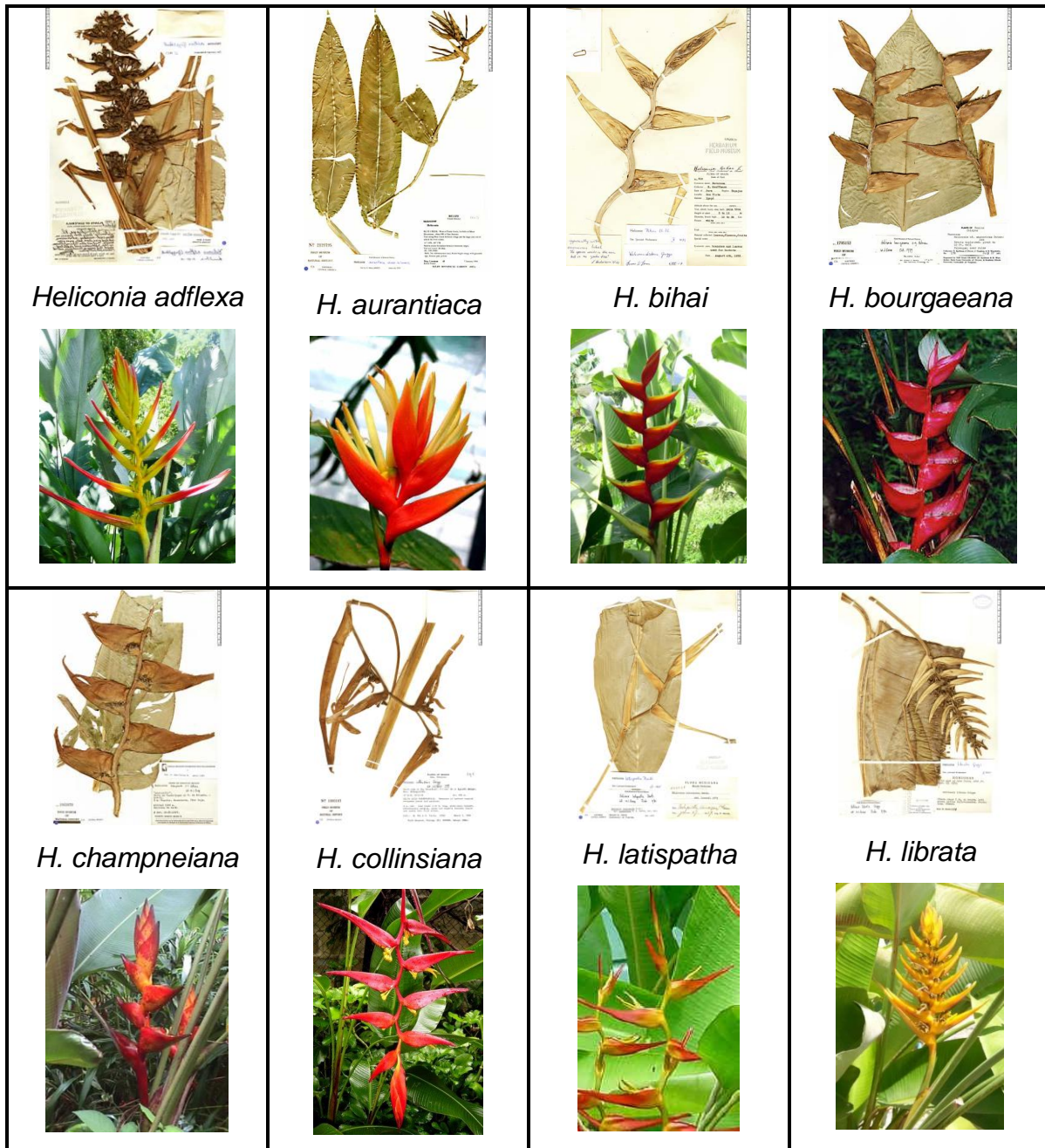
Las heliconias son especies neotropicales. El 98% de ellas se distribuyen en Centro, Sudamérica y el Caribe; el resto se ubica en algunas Islas del Pacífico Sur como Samoa y la isla indonesia de Sulewesi (**Figura I.4**) (Berry y Kress, 1991). Con 93 especies registradas, Colombia ocupa el primer lugar en diversidad de heliconias en el mundo, seguida por Brasil con 45, Costa Rica con 37, Perú con 35, Ecuador con 32, Venezuela con 30, Bolivia con 20 y México con 16 (Hoyos, 1986; Madriz *et al.*, 1991; Kress, 1991; Gutiérrez-Báez, 2000; Kress *et al.*, 2004; Sosa-Rodríguez, 2004).



Figura I.4. Distribución geográfica del género *Heliconia*. Las heliconias son especies neotropicales que se distribuyen principalmente en América Tropical y algunas Islas del Pacífico Sur. El mapa ha sido tomado del Smithsonian National Museum of Natural History, disponible en la dirección <http://botany.si.edu/Zingiberales/>.

Debido a su hábito de crecimiento, desarrollan abundantes vástagos y sistemas extensos de raíces que permiten estabilizar los ecosistemas tórridos, principalmente en cuanto a la retención del suelo y la humedad. Muchas de estas especies son aprovechadas para producir insumos útiles para el ser humano, entre los que se encuentran la preparación de alimentos, la construcción de viviendas y como ornamentales, ya sea como follaje, flores de corte, plantas de maceta o en jardines. Las inflorescencias que producen permiten mantener una fauna rica en polinizadores de diferente tipo (Bruna, 2002; Bruna *et al.*, 2004).

Las 16 especies de heliconias nativas de México son: *Heliconia adflexa* (Griggs) Standl., *H. aurantiaca* Ghiesbr., *H. bihai* L., *H. bourgaeana* Petersen, *H. champneiana* Griggs, *H. collinsiana* Griggs, *H. latispatha* Bentham, *H. librata* Griggs, *H. mariae* J. D. Hooker, *H. mooreana* R. R. Smith, *H. schiedeana* Klotzsch, *H. spissa* Griggs, *H. tortuosa* Griggs, *H. uxpanapensis* C. Gutiérrez-Báez, *H. vaginalis* Benth.susp. *mathiasiae* (G. S. Daniels y F. G. Stiles) L. Anders. y *H. wagneriana* Petersen (Gutiérrez-Báez, 2000) (Figura I.5).



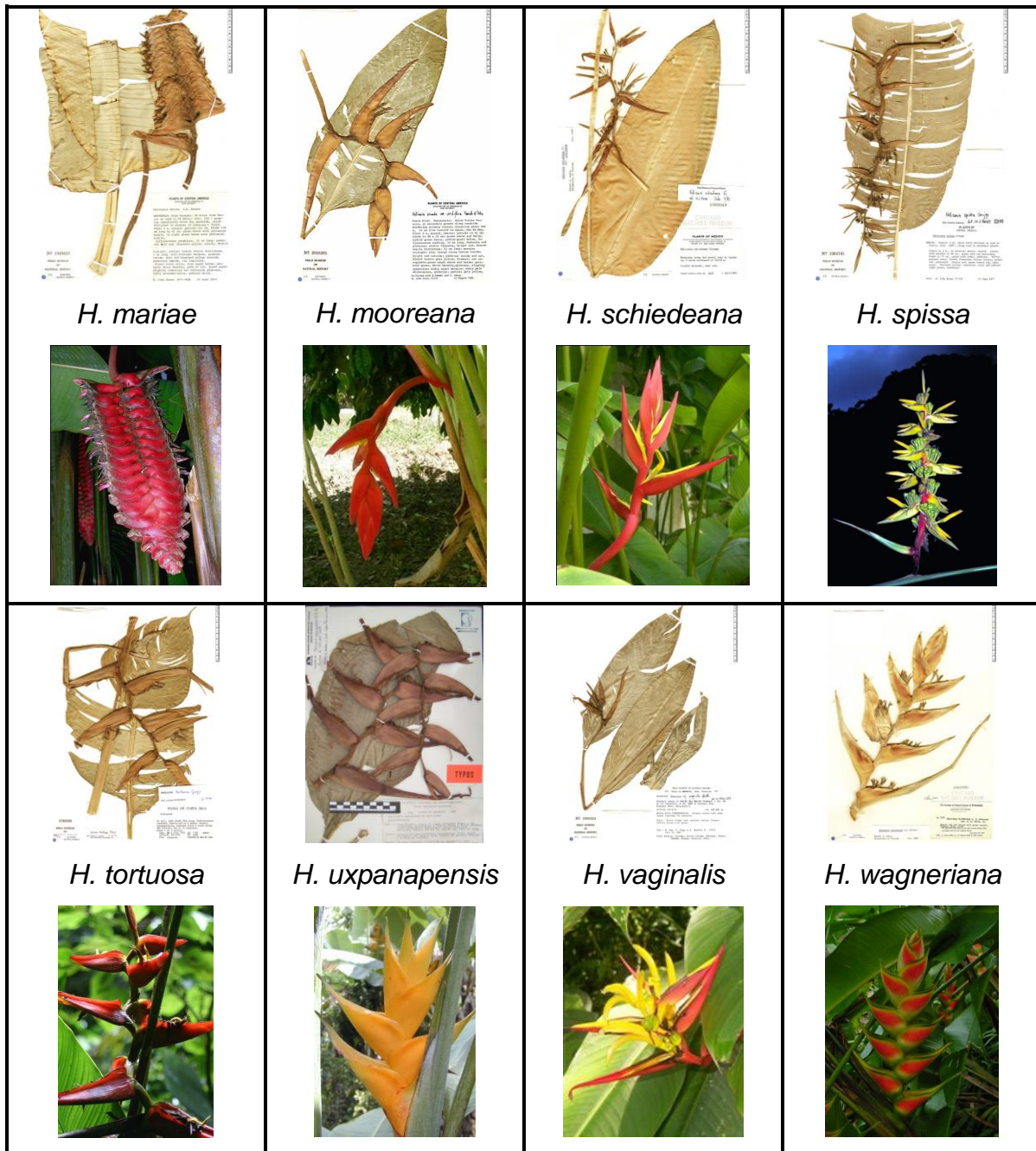


Figura I.5. Especies de heliconias nativas de México. Los ejemplares de herbario han sido tomados de Muestras Neotropicales de Herbario en el sitio The Field Museum disponible en la dirección www.fieldmuseum.org/ y del Herbario del Instituto de Ecología A. C. disponible en la dirección <http://www1.inecol.edu.mx/herbarioxal/>. Las imágenes de las inflorescencias han sido tomadas del banco de imágenes de AgroTropical disponible en la dirección <http://www.heliconias.net/>, y de The Heliconia Society of Puerto Rico disponible en la dirección http://www.heliconiasocietypr.org/heliconia_cultivars3.htm.

I.3.SEMILLAS DE HELICONIAS

Aunque la principal forma de propagación de las heliconias es asexual por medio de rizomas, estas plantas producen frutos que son drupas trianguladas, glabras a velutinas, negras a verde o azul, que contienen de dos a tres semillas de color pardo a negro, irregulares, con la sección central aplanada y márgenes rugosos (Figura I.6) (Gutiérrez-Báez, 2000).

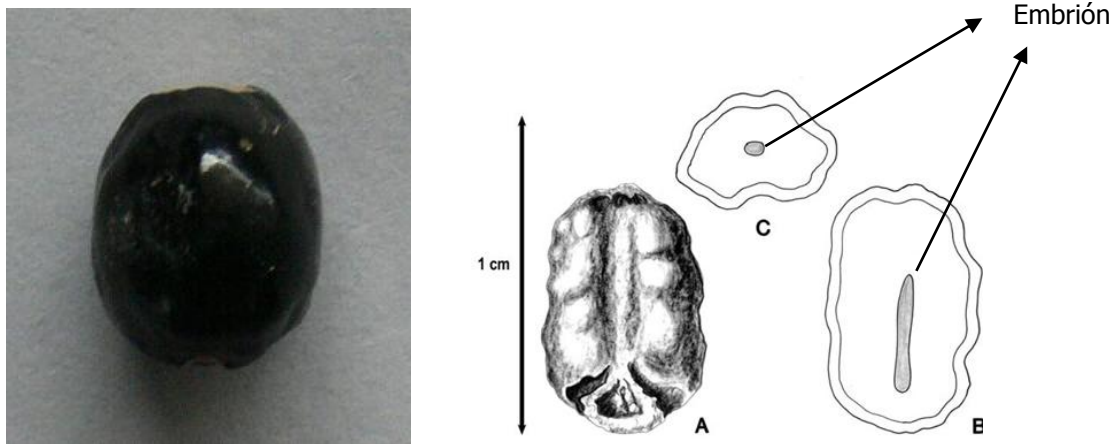


Figura I.6. Fruto y semilla típica de una heliconia. El fruto es una drupa que contiene por lo regular tres semillas. Las semillas están dotadas de una testa dura (A), dentro de la cual se ubica el embrión (B, C).

Las semillas de las heliconias constan de una cubierta dura o testa, material alimenticio almacenado y un embrión. La testa puede tener muy distintas texturas y apariencias. Generalmente es dura y está formada por una capa interna y una externa de cutícula, y una o más capas de tejido grueso que sirve de protección. Estas características le confieren a la testa cierto grado de impermeabilidad al agua y a los gases, lo que afecta el metabolismo y el crecimiento de la semilla (Kozłowski *et al.*, 1972), ocasionando que éstas con frecuencia presenten latencia o dormancia y bajos porcentajes de germinación (Montgomery, 1986). La latencia o dormancia es el estado en el cual una semilla viable no germina aún en condiciones de humedad, temperatura y concentración de oxígeno idóneas para

hacerlo. Así, las semillas pueden mantener su viabilidad durante largos períodos de tiempo. Esta es una de las propiedades adaptativas más importantes que poseen las plantas. Debido a ello, las semillas sobreviven en condiciones desfavorables y adversas, aunque no indefinidamente. En condiciones adecuadas, las semillas inician su germinación y necesitan de un medio rico en nutrientes para poder desarrollar la nueva plántula.

Las semillas de heliconias presentan un bajo porcentaje de germinación y larga latencia (Criley y Broschat, 1992). Cuando logran germinar, lo primero que ocurre es que el embrión absorbe agua a través de la testa, hay hinchazón del endospermo, aumentando el volumen. Después, se inicia la división celular, y el embrión rompe la cubierta seminal. Se forma una estructura de tipo protocormo, a partir del agregado de células y sobre el cual puede distinguirse un meristemo del vástago. Rápidamente, se inicia la diferenciación de órganos del vástago en un lado y rizoides en el opuesto. Si el protocormo está a la luz, adquiere el color verde y al mismo tiempo se forman las hojas. Al final, tiene lugar la formación de clorofila por lo que la planta se vuelve autótrofa, formándose las primeras raíces auténticas, por lo que el protocormo y los rizoides pierden su misión de nutrir y desaparecen (Berry y Kress, 1991).

Para romper la latencia de semillas de heliconias es posible utilizar varios métodos de escarificación, que básicamente se pueden agrupar como húmedos (ácidos, álcalis, solventes, alcoholes) o secos (microondas, impacto, remisión manual o mecánica de la testa o parte de ella) (Doran *et al.*, 1983). Cualquiera de estos tratamientos acelera el proceso de germinación, lo cual dependerá de la especie, la técnica empleada, origen de la semilla, época de cosecha y tiempo de almacenamiento (Cruz y Takaki, 1983; Corral *et al.*, 1990; Sanabria *et al.*, 1997; Sanabria *et al.*, 2001). De todos ellos, los que se utilizan con mayor frecuencia son los ácidos que pueden ser sulfúrico o clorhídrico y las bases como el hidróxido de sodio. Una vez escarificadas y limpias, las semillas pueden ser establecidas en medios óptimos para su germinación (Doran *et al.*, 1983).

I.4. PROPAGACIÓN Y NUTRICIÓN DE HELICONIAS

1.4.1 Propagación de heliconias

Las heliconias son plantas herbáceas que se reproducen tanto de manera sexual como asexual, incluyendo en ambos casos el cultivo o la propagación *in vitro*. Para el caso de propagación por semillas, se recomienda hacer una completa limpieza y desinfección de éstas, incluyendo así mismo procesos de escarificación para contrarrestar los problemas de dormancia que presentan de manera natural. En los semilleros se recomiendan temperaturas de entre 25 a 35 °C; el trasplante debe realizarse cuando las plántulas han alcanzado entre 2 y 4 cm de altura (Criley, 1988; Carle, 1989).

La propagación asexual en heliconias tiene lugar de manera natural a través del desarrollo de las yemas vegetativas presentes en su tallo rizomatoso. Los pseudotallos se cortan, dividen, eliminan raíces y desinfectan con fungicidas y nematicidas, principalmente. Aunque los rizomas pueden sembrarse directamente en el suelo, es preferible hacerlo en contenedores o macetas, y una vez que allí hayan desarrollado nuevas raíces, se pueden trasplantar para su cultivo (Jerez, 2007).

El cultivo *in vitro* de estas especies abarca tanto el cultivo de tejidos como de semillas y embriones. Nathan *et al.* (1992), propagaron *H. psittacorum* a través del cultivo de yemas, empleando Rocefín® (Ceftriaxona, 0.2 g L⁻¹) para controlar la contaminación y polivinilpirrolidona (PVP) en combinación con ácido cítrico y ácido ascórbico en concentraciones de 1 g L⁻¹ cada uno, como agentes antioxidantes. Goh *et al.* (1995), emplearon organogénesis directa en la propagación de *H. psittacorum* en el medio de cultivo de Murashige y Skoog (MS). Sosa-Rodríguez (2004) evaluó la combinación de los reguladores de crecimiento 6-bencilaminopurina y ácido 3-indolacético (6-BAP y AIA, respectivamente) en la multiplicación de *H. standleyi* a partir de explantes. Marulanda e Isaza (2004) evaluaron métodos de desinfección de explantes en heliconia, con fines de reproducción masiva. Emplearon para ello, el medio MS a la mitad de su

concentración, siguiendo las recomendaciones de [Nathan et al. \(1992\)](#). [Rodrigues \(2005\)](#) reportó el establecimiento *in vitro* de *Heliconia rauliniana* a partir de yemas laterales, empleando el medio MS, en el que hubo alta incidencia de contaminación por bacterias de los géneros *Pseudomonas* y *Klebsiella*.

La germinación de semillas en medio estéril es una de las posibles vías para la obtención de plántulas *in vitro* que servirían como punto de partida (fase de establecimiento) para protocolos de micropropagación, inducción de callos y cultivo de suspensiones celulares, o simplemente para obtener plantas sanas. [Castañeda-Castro \(2002\)](#) reportó con éxito la germinación *in vitro* de semillas escarificadas y de embriones extraídos de la especie *H. collinsiana* en medio MS al 50 %, datos que coincidieron con los reportados por [Vidal-Morales \(2007\)](#).

A pesar de que se han hecho ya diversos estudios sobre cultivo *in vitro* de heliconias, la oferta comercial de especies micropropagadas es escasa y restringida a algunos cultivares, por lo que se hace necesario explorar métodos de propagación alternativos utilizando semillas.

1.4.2 Nutrición de heliconias

Para una buena producción de flores y semillas, estas plantas necesitan de un buen balance nutrimental. Dentro de los primeros trabajos realizados en este tema, [Auerbach y Strong \(1981\)](#) reportaron que en plantaciones naturales el contenido de nitrógeno en tejido foliar de *H. imbricata* (1.76%) era menor que el de *H. latispatha* (3.01%) y que algunas especies del género *Musa* (3.03%).

Para las plantaciones comerciales la mayoría de las especies de heliconias prefieren suelos ácidos, aunque existen cultivares que soportan suelos ligeramente alcalinos ([Criley, 1989](#)). Sin embargo, la especie *H. psittacorum* y el cultivar Golden Torch (*Heliconia psittacorum* x *H. spathocircinata*) son muy susceptibles a suelos alcalinos y pesados o con problemas de drenaje, y por lo

general presentan síntomas de deficiencia de Fe y Mn en estos suelos ([Broschat y Donselman, 1983](#)).

Con altos niveles de fertilización ($650 \text{ g N m}^{-2} \text{ año}^{-1}$) el cultivar Andrómeda llega a generar más de 700 pseudotallos, lo que ocasiona altas densidades de población con tallos débiles y producción deficitaria de flores y éstas de mala calidad ([Broschat et al., 1984](#)).

En diversas especies de heliconias, se observa que la eficiencia fotosintética y el contenido de clorofila de las hojas disminuyen cuando las plantas reciben el impacto directo de la luz solar, pero este efecto desaparece cuando las plantas reciben un aporte suficiente de nutrimentos, en específico de N ([He et al., 2000](#)).

[Cid et al. \(2003\)](#) estudiaron el efecto de las condiciones climáticas en la producción de cultivares de *H. psittacorum* con fertirrigación. La solución nutritiva contenía 150 N – 60 P – 150 K – 110 Ca + microelementos (15% del N en forma amoniacal), aplicada mediante goteros de 2 L h^{-1} autocompensantes y antidrenantes, colocando uno por planta al inicio y aumentando su número a medida que fue creciendo la densidad de brotes. Se encontró que si bien el riego y la fertilización fueron adecuados, las condiciones climáticas fueron limitantes y que los cultivares mostraron respuestas diferenciales, concluyendo que esta especie es afectada principalmente por insuficiente radiación y temperaturas por debajo de los $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

[Castro et al. \(2007\)](#) reportaron que la deficiencia de N en plantas del cultivar Golden Torch ocasionó deformación de los tallos y coloraciones pálidas de las inflorescencias. Las variables longitud de tallo, diámetro y longitud de la inflorescencia fueron afectados significativamente en plantas con deficiencias de N, P o K, reduciéndose hasta en 31.23% en comparación con las plantas que recibieron tratamientos con soluciones completas. El peso de la materia seca del

tallo y la vida de florero se redujeron en 67% and 38.46%, respectivamente, en soluciones deficientes de N o K.

Con estos antecedentes es posible establecer que las heliconias son especies con una amplia posibilidad de crecimiento en la industria florícola en México y que para ello es necesario desarrollar tecnología que permita establecer sistemas de producción eficientes en primer lugar de semillas y plantas para su cultivo, y en segundo lugar de manejo del cultivo, en especial de la nutrición. Para ello en esta investigación se llevaron a cabo análisis anatómicos, bioquímicos, fisiológicos y nutrimentales de semillas, y de su establecimiento *in vitro* para la producción de plantas. A nivel de planta se estudió la respuesta de *H. psittacorum* a diferentes concentraciones de nutrimentos (potenciales osmóticos) en la solución nutritiva.

I.5.OBJETIVO Y ALCANCES DE LA INVESTIGACIÓN

El principal objetivo que persigue esta investigación es llevar a cabo un estudio detallado de algunos aspectos de la biología de semillas de cinco especies de heliconias, así como de las respuestas fisiológicas de las plantas a diferentes concentraciones nutrimentales en la solución nutritiva en hidroponía de una de las especies en estudio.

La tesis incluye una introducción general al tema contenida en este **Capítulo I**, en donde se desglosan aspectos generales sobre biodiversidad, heliconias y nutrición de heliconias.

En el **Capítulo II** se reportan los resultados de los estudios sobre anatomía de semillas, cuantificación de nutrimentos y de ácido abscísico en estos órganos reproductivo, así como estudios de escarificación de semillas y de contaminación por hongos y bacterias en los medios de cultivo.

En el **Capítulo III** se analizan las respuestas de las plantas de *H. psittacorum* a diferentes concentraciones nutritivas de la solución de Steiner en hidroponía.

Al final se presentan **Conclusiones y Recomendaciones Generales** del estudio.

I.6. LITERATURA CITADA

- Auerbach M J, D R Strong (1981) Nutritional ecology of *Heliconia* herbivores: experiments with plant fertilization and alternative hosts. *Ecological Monographs* 51: 63-83.
- Berry F, W J Kress (1991) *Heliconia*. An identification guide. Smithsonian Institution. Washington. 334 p.
- Broschat T K, H M Donselman (1983) Production and postharvest culture of *Heliconia psittacorum* flowers in South Florida. *Proceedings of the Florida State Horticulture Society* 96: 272-273.
- Broschat T K, H M Donselman, A A Will (1984) Andromeda and Golden Torch heliconias. *HortScience* 19: 736-737.
- Bruna E M (2002) Effects of forest fragmentation on *Heliconia acuminata* seedling recruitment in central Amazonia. *Oecologia* 132: 235-243.
- Bruna E M, W J Kress, F Marques, O F Da Silva (2004) *Heliconia acuminata* reproductive success is independent of local floral density. *Acta Amazonica* 34: 467-471.
- Carle A W (1989) Heliconias by seed. *Bulletin of the Heliconia Society International* 2: 5-6.
- Castañeda-Castro O (2002) Germinación *in vitro* de *Heliconia collinsiana* Griggs. Tesis de Licenciatura. Universidad Veracruzana. Orizaba, Veracruz, México. 51 p.
- Castro R A C, V Loges V, S A Costa, A M F Castro, S F A Aragao, G L Villandino (2007) Hastes florais de helicônia sob deficiência de macronutrientes. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 42: 1299-1306.
- CDB (1992) Convenio sobre la Diversidad Biológica (CDB). Texto en español (pp. 226-253). Rio de Janeiro, Brasil. 28 p.
- Cid M C, M A Díaz, P Mansito, M L Pérez (2003) Producción de heliconias en Canarias: Influencia de las condiciones climáticas. *Actas de Horticultura N° 39 · X Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas*. Pontevedra, España. 507-508.
- CONABIO. 1998. La diversidad biológica de México. Estudio de país, 1998. Comisión Nacional Para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. 341 p.
- Corral R, J M Pita, F Pérez-García (1990) Some aspects of seed germination in four species of *Cistus* L. *Seed Science and Technology* 18: 312-325.
- Criley R A (1988) Propagation of tropical cut flowers: strelitzia, alpinia and heliconia. *Acta Horticulturae* 226: 509-517.
- Criley R A (1989) Development of heliconia and alpinia in Hawaii: cultivar selection and culture. *Acta Horticulturae* 246: 247-258.

- Criley R A, T K Broschat (1992) Heliconia: botany and horticulture of a new floral crop. Horticultural Reviews 14: 1-55.
- Cruz S D, M Takaki (1983) Dormancy and germination of seeds of *Cloris urthonothon*. Seed Science and Technology 11: 323-329.
- Doran J C, D J Boland, I J W Turnbull, B V Gunn (1983) Manual sobre las semillas de acacias de zonas secas. FAO. Roma. 122 p.
- Goh C J, M J Nathan, P P Kumar (1995) Direct organogenesis and induction of morphogenic callus through thin section culture of *Heliconia psittacorum*. Scientia Horticulturae 62: 113-120.
- Gutiérrez-Báez C (2000) Flora de Veracruz. Fascículo 118. Familia Heliconiaceae. Instituto de Ecología A. C. y University of California-Riverside. 32 p.
- He J, L P Tan, C J Goh (2000) Alleviation of photoinhibition in heliconias growth under tropical natural conditions after release from nutrient stress. Journal of Plant Nutrition 23: 181-196.
- Hoyos J F (1986) Plantas ornamentales de Venezuela. Ed. Sociedad de Ciencias Naturales La Salle. Caracas, Venezuela. 551 p.
- Jerez E (2007) El cultivo de las heliconias. Cultivos Tropicales. 28: 29-35.
- Kozłowski T T, C R Gunn (1972) Importance and characteristics of seeds. In:Kozłowski, T. T. (Ed.). Seed biology - Importance, development and germination 1. New York and London: Academic Press. pp. 1-20.
- Kress W J (1991) New taxa of *Heliconia* (Heliconiaceae) from Ecuador. Brittonia 43(4): 253-260.
- Kress W J, J Betancur, B Echeverry (2004) Heliconias. Llamadas de la selva colombiana. Ed. Cristina Uribe. Bogotá. Colombia. 200 p.
- Madriz R, G Smits G, R Noguera (1991) Principales hongos patógenos que afectan algunas especies ornamentales del género *Heliconia*. Agronomía Tropical 41: 265-274.
- Marulanda M L, V L Isaza (2004) Establecimiento *in vitro* de heliconias con fines de reproducción masiva. Scientia et Técnica 26:193-196.
- Mittermeier R A, C Goettsch, P Robles-Gill (1997) Megadiversidad. Los países biológicamente más ricos del mundo. CEMEX. México. 501 p.
- Montgomery R (1986) Propagation of heliconia from seeds. Bulletin of The Heliconia Society International 1: 6-7.

- Nathan M J, C J Goh, P P Kumar (1992) *In vitro* propagation of *Heliconia psittacorum* by bud culture. HortScience 27 : 450-452.
- Rodrigues V P H (2005) *In vitro* establishment on *Heliconia rauliniana* (Heliconiaceae). Scientia Agricola 62: 69-71.
- Rzedowski J (2006) Vegetación de México. Primera edición digital. Comisión Nacional para la Conservación y Uso de la Biodiversidad. México. 501 p.
- Sanabria V D, R Silva-Acuña, C Alfaro C, M A Oliveros (1997) Escarificación térmica de semillas de tres accesiones de *Leucaena leucocephala*. Zootecnia Tropical 15: 67-80.
- Sanabria V D, R Silva-Acuña, M A Oliveros, R Barrios (2001) Escarificación química y térmica de semillas subterráneas de *Centrosema rotundifolium*. Bioagro 13: 117-124.
- Sosa-Rodríguez F M (2004) Propagación *in vitro* de *Heliconia standleyi* Macbride. Tesis de Master en Ciencias Agrícolas. Universidad Agraria de la Habana "Fructuoso Rodríguez Pérez". Cienfuegos, Cuba. 79 p.
- Vázquez-García L M (2005) Recursos genéticos ornamentales de México. Avances. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS-SAGARPA) y Universidad Autónoma del Estado de México. México. 109 p.
- Vidal-Morales B (2007) Germinación *in vitro* y nutrición de heliconias. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México. 133 p.

Páginas electrónicas consultadas:

AgroTropical: <http://www.heliconias.net/heliconia.html>.

Segan: <http://www.sagan-gea.org>.

Smithsonian National Museum of Natural History: <http://botany.si.edu/Zingiberales/>.

The Heliconia Society of Puerto Rico: <http://www.heliconiasocietypr.org/>.

CAPÍTULO II

II. ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DE SEMILLAS DE HELICONIAS

II.1. INTRODUCCIÓN

Las heliconias son especies que desempeñan un papel muy importante en los ecosistemas, actuando como pioneras en procesos de regeneración natural de la vegetación y restauración de suelos degradados, además de mantener relaciones benéficas con animales, plantas y microorganismos, y son vectores importantes en la reconstrucción de ecosistemas perturbados en los trópicos. Sin embargo, la degradación de los sistemas naturales en donde cada vez aumenta la tasa de deforestación, pone en peligro la existencia de estas especies ([Bruna y Ribeiro, 2005](#)).

Además de su valor ecológico, las heliconias tienen también un valor comercial importante al producir flores de corte, plantas para maceta y jardinería y hojas para preparar alimentos. Como ornamentales, las heliconias representan una fuente de empleo en el sector de la floricultura y contribuyen a mejorar el nivel de ingresos de los productores, pues sus inflorescencias poseen un buen precio unitario por su larga vida en florero, su tamaño y sus exóticas formas y colores, además de proyectar una imagen innovadora en los sitios donde se colocan ([Burchi et al., 1996](#)).

Estas especies se reproducen principalmente de forma asexual por medio de rizomas, pero también lo hacen a través de semillas, aunque en menor proporción, debido a algunos problemas que presentan para germinar ([Vidal-Morales, 2007](#)).

Las semillas de las heliconias derivan de sus frutos, que son drupas que se generan a partir de un ovario unicarpelar, con sutura marcada como un surco pronunciado especialmente en el carozo o hueso. El epicarpo (capa externa del pericarpo, sinónimo de exocarpo que suele corresponder a la epidermis del carpelo), contiene una epidermis variable según la especie y un colénquima

subepidérmico. El mesocarpo es carnosos; durante la maduración disminuyen los ácidos con el contenido celular y aumenta el contenido de azúcares. El endocarpo es el carozo o hueso, esclerificado. En el carozo, de adentro hacia fuera, la epidermis origina varias capas de esclereidas verticalmente alargadas, luego hay esclereidas transversales alargadas, seguido una o dos capas de esclereidas isodiamétricas. En este sector hay haces vasculares, lo que indica que esas capas se originaron del mesófilo ([Gutiérrez-Báez, 2000](#)).

Las semillas no tienen arilo y el embrión no se encuentra bien diferenciado cuando éstas maduran, hecho que explica el retraso de germinación ([Kress et al., 2004](#)). La germinación de semillas es lenta, puede tardar desde tres meses o hasta tres años ([Berry y Kress, 1991](#)), por lo que para programas de reproducción a través de estos órganos se recomienda utilizar frutos de color azul, bien maduros, y evitar frutos que se hayan secado dentro de las brácteas.

Aunque se han hecho algunas caracterizaciones básicas de las semillas de algunas especies de heliconias, no se han hecho estudios detallados de la anatomía y la fisiología de estos órganos reproductivos, por lo que en esta investigación se plantearon los siguientes objetivos:

II.2. OBJETIVO GENERAL

Realizar estudios anatómicos, fisiológicos y de contenidos nutrimentales en semillas de cinco especies de heliconias y evaluar su impacto en el porcentaje de germinación.

II.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Hacer cortes de los tejidos de las semillas de cinco especies de heliconias para ser analizados al microscopio electrónico de barrido.
2. Realizar ensayos para medir la permeabilidad de las semillas al agua.

3. Cuantificar el contenido de ácido abscísico (ABA), macronutrientes y micronutrientes en semillas de cinco especies de heliconias.
4. Evaluar el porcentaje de germinación que logran las semillas de cinco especies de heliconias sometidas a diferentes tratamientos de escarificación.

II.4. HIPÓTESIS GENERAL

La estructura anatómica y la fisiología de las semillas es determinante en la germinación de las mismas.

II.5. HIPÓTESIS ESPECÍFICA

1. Las dificultades de las semillas para geminar se relacionan directamente con la estructura de la semilla y con el desarrollo que alcanza su embrión.
2. La dureza de la testa de la semilla impide la permeabilidad del agua e imposibilita la emergencia del embrión.
3. El contenido de ácido abscísico y de nutrientes en las semillas determina el porcentaje de germinación y sobrevivencia de las plántulas al emerger.
4. La germinación de las semillas está determinada por las características anatómicas y fisiológicas inherentes a las mismas y mejora con la escarificación.

II.6. MATERIALES Y MÉTODO

II.6.1. Material biológico

Se utilizaron semillas de las especies *Heliconia bourgaeana* Petersen, *H. collinsiana* Griggs, *H. latispatha* Bentham, *Heliconia psittacorum* L. f. y *H. rostrata* Ruiz y Pavón, colectadas y almacenadas durante un año antes de su análisis. En el caso de semillas frescas, se seleccionaron los frutos maduros y se extrajeron las semillas de forma natural, las cuales se lavaron con agua corriente y jabón en polvo por 20 min, con la ayuda de un agitador magnético. Posteriormente, se trataron con el fungicida Daconil (ingrediente activo 45% de clortalonil, 10% de carbendazima (500 g L⁻¹), aplicado a una concentración de 3 g L⁻¹. El almacenaje

de las semillas se hizo en frascos de vidrio a temperatura ambiente. La colecta se hizo en huertos de heliconias establecidos y en producción de la zona Córdoba – Orizaba en el estado de Veracruz (localizado a 646 msnm, 96° 51' de latitud norte y 18° 51' de longitud oeste).

II.6.2. Análisis de la permeabilidad de semillas

La permeabilidad de las semillas se evaluó mediante la inmersión de 40 semillas de la especie *Heliconia psittacorum* en un frasco de vidrio con capacidad de 200 mL conteniendo colorante azul de metileno al 2.5 % en 100 mL de agua, tomando 0.25 mg (una gota) para 200 mL de agua destilada y cada semana se realizaron cortes transversales a dos semillas para evaluar la entrada de agua y colorante. Este estudio se realizó sólo para la especie *H. psittacorum* por un tiempo de cinco semanas, y el proceso de absorción del colorante fue observado bajo microscopio de disección (marca LabKlass®, modelo XTX-3C 1x/3x).

II.6.3. Estudios anatómicos

Para analizar la anatomía, se seleccionaron 15 semillas con un año previo de almacenamiento de cada especie, se rehidrataron durante una semana con agua destilada en tubos de ensayo. Los tubos contenían 30 mL de agua.

Se preparó una solución amortiguadora que consistió en disolver 4.26 g L⁻¹ de Na₂HPO₄ (solución A) en 150 mL de agua desionizada y 4.14 g L⁻¹ de NaH₂PO₄ H₂O (solución B). En un matraz Erlenmeyer se adicionaron 60.75 mL de la solución A más 14.25 mL de la solución B, obteniendo un volumen total de 75 mL, al que se agregaron 75 mL de agua desionizada, para obtener 150 mL de la solución amortiguadora. Se prepararon 18 mL de glutaraldehído, volumen que se disolvió en 132 mL de la solución amortiguadora y se añadieron 15 gotas de CaCl₂ 1% a pH 7. Una vez rehidratadas, las semillas se cortaron a la mitad y se fijaron en el glutaraldehído al 3%, para iniciar el proceso de fijación de la muestra, el cual duró una semana.

Pasado el tiempo de fijación se realizó un lavado cuidadoso de las muestras de semillas, mediante la inmersión en la solución amortiguadora. En seguida, se vació el contenido y se aplicó alcohol al 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100% durante 1 h en cada concentración. Cuando se alcanzó el 100% de alcohol, las semillas se dejaron reposar durante 1 h y 30 min, y se repitió el proceso tres veces. Luego, las muestras fueron llevadas a la cámara de sacado a punto crítico (31.1°C, 1073 libras de presión, durante 24 h). Las muestras deshidratadas se pusieron en una secadora de punto crítico (marca Sandri-780A®), se fijaron sobre portamuestras con una cinta doble adhesiva de cobre y se recubrieron con oro durante 4 min en una ionizadora (Ion Sputter JFC-1100®, Jeol, Fine Coat). Las muestras se observaron en un microscopio electrónico de barrido marca JEOL® modelo JSM-6390 operado a 10 Kv.

II.6.4. Determinación del contenido de ácido abscísico en semillas

Para esta determinación se adaptó el método descrito por [Olivella *et al.* \(2001\)](#). Para la extracción del ácido abscísico (ABA) se pesaron 90 g de semillas de cada especie y se trituraron con la ayuda de nitrógeno líquido, usando mortero y pistilo de porcelana. Las muestras pulverizadas fueron sumergidas en 4 mL de acetona al 90% y puestas en agitación por 12 min a 10°C. Enseguida, las muestras fueron centrifugadas a 1230 g por 5 min, filtrando el sobrenadante con ayuda de papel filtro y volviendo a aforar la muestra precipitada a 4 mL para una segunda centrifugación. Después de ambas centrifugaciones las muestras sobrenadantes filtradas fueron depositadas en un matraz Erlenmeyer. De este extracto producto de la centrifugación se tomó una alícuota de 300 µL y se colocó gota a gota en una placa de 5 x 5 cm con sílica para detección de ABA. Como muestra control se colocó una gota de ABA patrón a un costado de donde se colocó el extracto. La placa de sílica conteniendo las muestras y el patrón fue colocada en un contenedor para cromatografía de capa fina con acetato de etilo en el fondo y se esperó a que fuera absorbido hasta 1 cm antes del borde de la placa. Una vez que el acetato de etilo corrió, la placa fue retirada del contenedor y para evaporar los restos del acetato. La placa de sílica fue observada a luz UV para detectar el

corrimiento del ABA patrón y el ABA de la muestra. Donde se encontraron las bandas del ABA de la muestra, se marcó y se raspó para obtención de ABA. La muestra raspada se colocó en un tubo conteniendo 4 mL de acetato de etilo y se centrifugó durante 5 min. Después se depositó en un vaso de precipitados y se aforó a 10 mL con acetato de etilo. Se llevó a evaporación con CO₂. Después se aforó a 1 mL con metanol grado analítico y se colocó en tubo para detección en HPLC (cromatógrafo de líquidos de alta resolución, marca Hewlet packard modelo 1100 con arreglo de diodos, zorbax SB-C8) (4.6 x 250 mL⁻¹) en tamaño de partícula 5 µm.

II.6.5. Análisis del contenido de nutrimentos en semillas

De las semillas de las cinco especies de heliconias en estudio se determinaron las concentraciones de N, P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn y B, siguiendo el procedimiento descrito por [Alcántar y Sandoval \(1999\)](#). La determinación del N total se realizó por el método de micro-Kjeldahl ([Chapman y Pratt, 1973](#)). Para los demás nutrimentos los extractos obtenidos fueron leídos en un equipo de espectrometría de emisión atómica de inducción por plasma (ICP-AES) marca VARIAN® modelo Liberty II.

II.6.6. Escarificación y germinación *in vitro* de semillas

Se probaron cuatro tratamientos de escarificación de semillas, consistentes en un testigo (T1), en el cual se conservaron las semillas intactas, la inmersión por 90 minutos en H₂SO₄ al 98 % (T2), la extracción de embriones (T3) y la aplicación de AG3 (21 mg disueltos en 30 mL de H₂O) (T4). Para cada tratamiento se utilizaron 100 semillas (**Cuadro II.1**).

Cuadro II.1. Tratamientos de escarificación en semillas de heliconias para su establecimiento *in vitro*.

Tratamiento	Método de escarificación	No. de semillas tratadas
T1	Testigo (sin escarificar)	100
T2	H ₂ SO ₄ al 98% (90 minutos)	100
T3	Extracción de embriones	100
T4	Aplicación de AG3 (24 h)	100

II.6.7. Establecimiento aséptico del cultivo

Posterior a los tratamientos de escarificación, las semillas fueron sometidas a un proceso de desinfección. Todas ellas fueron lavadas con una solución a base del fungicida Daconil (ingrediente activo 45% de clortalonil, 10% de carbendazima (500 g L⁻¹) al 3% por un periodo de 20 minutos. Enseguida se enjuagaron con agua esterilizada, continuando con un lavado con hipoclorito de sodio al 30 % (30 mL de hipoclorito en 100 mL de agua destilada) con un tiempo de inmersión de 20 min junto con 10 gotas de Microdin® y dos gotas de Tween® por cada 100 mL de agua. Después se enjuagaron tres veces con agua esterilizada. Para el caso de los embriones, el tiempo de inmersión en esta última solución fue de 10 min.

Una vez desinfectadas las semillas fueron depositadas cinco en frascos de vidrio de 200 mL de capacidad conteniendo 40 mL de medio de cultivo MS ([Murashige y Skoog, 1962](#)) al 50%, adicionado con 30 g L⁻¹ de sacarosa como fuente de carbono y las semillas se incubaron en un cuarto de crecimiento a 25 ± 2 °C, a una densidad de flujo fotosintético de fotones de 25 μmol m⁻² s⁻¹ y un fotoperíodo de 16 h.

Los embriones fueron extraídos mediante la remoción de la testa y endospermo, hasta alcanzar el embrión con la ayuda de un bisturí de mango No. 3, y fueron

desinfestados solo con la inmersión de 10 minutos en Daconyl al 3%. La utilización del ABA se realizó al momento de la siembra por cada frasco se aplicó 1 mL de la solución previamente esterilizada con la finalidad de bañar todos los embriones.

II.6.8. Germinación y contaminación de semillas

El porcentaje de germinación se determinó con el número de semillas germinadas de cada tratamiento aplicado.

Para analizar los patógenos presentes en las semillas de heliconias depositadas en los medios de cultivo, se pesaron 200 g de papa, se cortaron en cubos y se depositaron en matraces Erlenmeyer con 500 mL de agua destilada los cuales se taparon y se esterilizaron durante 15 min a 120 libras de presión. El líquido se filtró y se vertió en otro matraz, utilizando un colador como apoyo. Posteriormente se añadieron 20 g de agar bacteriológico y 15 g de dextrosa anhidra, se agitó y se aforó a 1 L. Se volvió a esterilizar bajo las condiciones antes mencionadas. Una vez esterilizado el material se vertió en cajas petri.

Quince semillas de las cinco especies de heliconias, se cortaron por mitad, se lavaron con hipoclorito de sodio al 3% (3 mL de hipoclorito de sodio en 100 mL de agua destilada) se enjuagaron con agua destilada y se secaron cerca del mechero. La siembra se llevó a cabo colocando cinco semillas por caja, petri, éstas se taparon, sellaron y se dejaron incubar por intensidad lumínica de dos semanas bajo luz blanca. Pasada las dos semanas se observó crecimiento fúngico y se procedió a la identificación de los patógenos. Para esto último, se colocó una gota de lactofenol (mezcla de glicerina, ácido láctico, lacto fenol cristal y agua destilada en proporción 20:20:40:20) en un portaobjetos. Con una aguja de disección se aisló un poco de micelio, y se depositó sobre la gota de lactofenol, colocando sobre éste un cubreobjetos, y para luego observarlo con un microscopio óptico (marca Vision-Lab® modelo M250).

II.6.9. Diseño experimental y análisis estadístico de los datos

Para los ensayos de germinación y de contaminación de semillas cada tratamiento consistió de 20 frascos con cinco semillas o embriones depositados en cada uno. El diseño fue completamente al azar con cuatro tratamientos. Los resultados obtenidos en cada uno de los experimentos fueron analizados estadísticamente utilizando la prueba de comparación de medias *t* de Student ($P \leq 0.05$), empleando el paquete estadístico SAS (SAS Institute, 2000). En todos los casos se comparó cada tratamiento contra el testigo (semillas sin escarificar).

Para las determinaciones nutrimentales y de ácido abscísico, el diseño fue el mismo y se contó con tres repeticiones.

II.7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

II.7.1. Permeabilidad de las semillas

La técnica empleada para analizar la entrada de azul de metileno a las semillas en mediciones semanales durante cinco semanas permitió constatar que la testa de *H. psittacorum* es impenetrable al agua, como lo demuestran las ilustraciones de la **Figura II.1**. Después de cinco semanas sólo fue posible detectar mayor tinción de la testa ya que el colorante alcanzó a entrar a las capas más superficiales a medida que transcurría el tiempo. Estas observaciones ponen de manifiesto que las semillas de esta especie presentan alta impermeabilidad al agua, lo que puede dificultar su germinación.

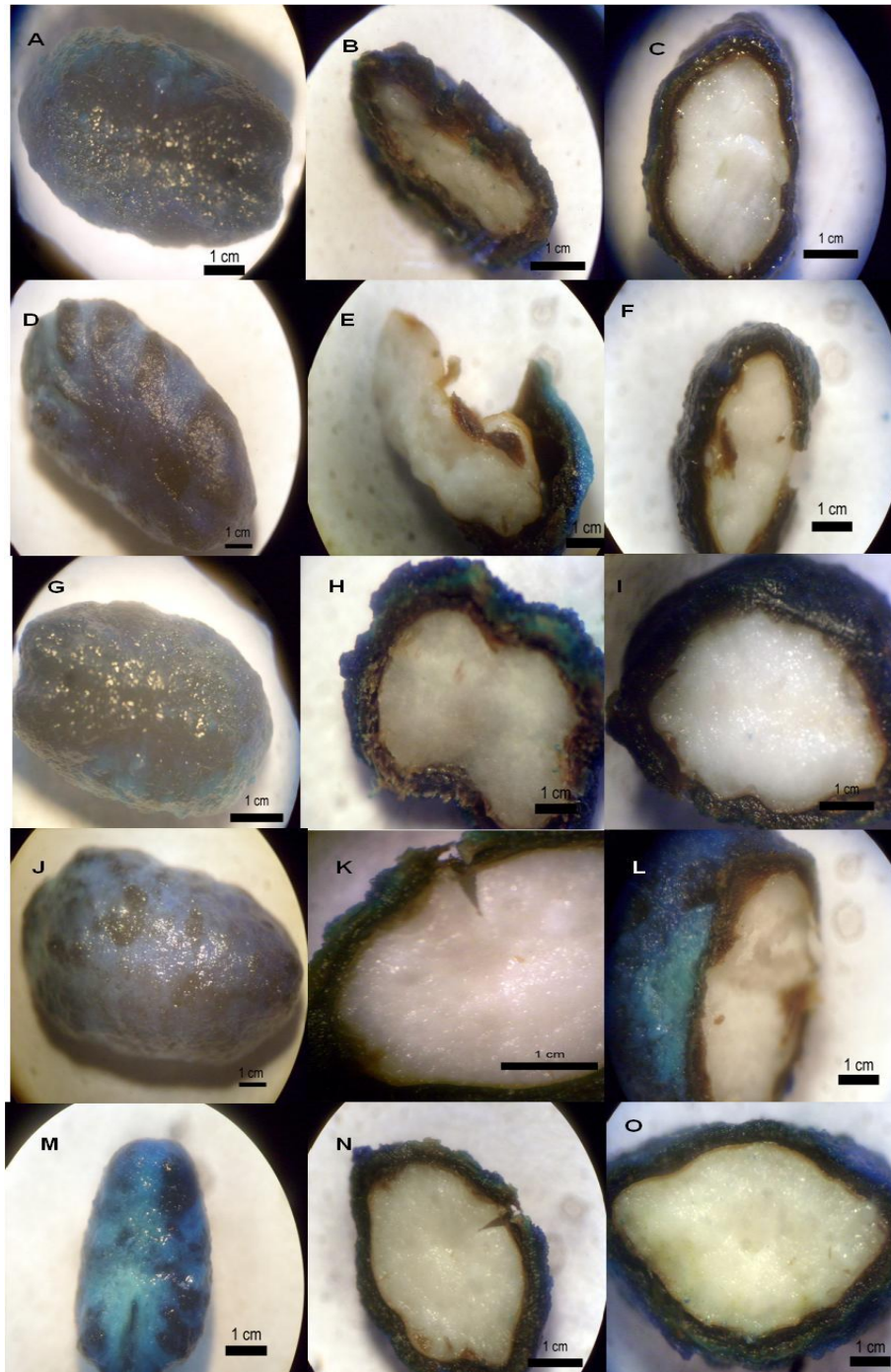


Figura II.1. Permeabilidad de semillas de *Heliconia psittacorum* inmersas en una solución de azul de metileno durante cinco semanas. A-C: siete días de inmersión; D-F: 14 días de inmersión; G-I: 21 días de inmersión; J-L: 28 días de inmersión; M-O: 36 días de inmersión. La primera columna (A, C, G, J y M) de las fotografías contiene semillas completas con

testas intactas; la segunda columna (B, E, H, K y N) es un corte transversal al micrópilo; la tercera columna (C, F, I, L y O) es un corte transversal intermedio de las semillas.

En diversas especies la cubierta seminal es causa de un alto grado de latencia, el cual obedece a una restricción en la absorción de agua asociada a la composición química y a las características morfo-anatómicas de la cubierta y varias partes de la epidermis han sido sugeridas como responsables de la impermeabilidad, entre ellas una cutícula cerosa, la línea lúcida, paredes celulares cutinizadas o suberizadas y la presencia de material semejante al corcho en el tapón estrofiolar (Castillo y Guenni, 2001).

Madueño-Molina *et al.* (2006) mencionan que la latencia o letargo que algunas semillas presentan puede deberse a condiciones tales como presencia de una testa dura que el embrión no puede romper, testa impermeable que impide la entrada del agua y del aire al embrión, embrión rudimentario o no totalmente formado, y embrión fisiológicamente inmaduro o presencia de inhibidores en la testa o en el endospermo que impiden el desarrollo inicial del embrión.

Dado que la presencia de testa dura en las semillas de heliconias impidió la entrada de agua y colorante, en esta investigación se hicieron estudios anatómicos que permitieran conocer más a detalle la constitución de la semilla en general y de la testa en particular.

II.7.2. Anatomía y morfología de semillas

Heliconia bourgaeana

La longitud promedio de la semilla es de 0.90 cm y su diámetro es de 0.75. La semilla tiene forma rectangular o elíptica, con bordes pronunciados y presenta testa color café en semillas maduras. La textura de la testa es rugosa al tacto y muy áspera y presenta estructuras en forma alargada y elíptica como si fueran costras formando una cadena alargada y encontradas en forma de ladrillos.



Figura II.2. Órganos reproductivos sexuales y morfología de *Heliconia bourgaeana*. A: Inflorescencia. B: Semillas. C: Vista de la semilla al microscopio óptico.

Al analizar la anatomía de las semillas de esta especie, en la **Figura II.3** se observa que las semillas de un año de edad ya habían consumido parte de sus reservas, dado que existe un espacio entre el embrión y el endospermo (**A** y **E**). El embrión es alargado con forma de torpedo, visto en corte longitudinal, diferenciándose la zona que dará origen a la raíz y la parte aérea (**E** y **F**); se compone de un estrato con células aplanadas y bordes poco definidos (**C**). Un estrato de células teñidas en rojo es indicador de la presencia de taninos en sus paredes (**C** y **D**). La siguiente zona es de parénquima multiestratificado, de forma rectangular, con tres a siete células (**C**); el endospermo presenta una gran cantidad de taninos (**A**, **D** y **E**). Así mismo se aprecia el endospermo cubierto por gránulos de almidón (**G**). Esta especie presenta como componente de la testa estructuras en forma alargada y elíptica, como si fueran costras formando una cadena alargada y dispuestas en forma de ladrillos (**H**).

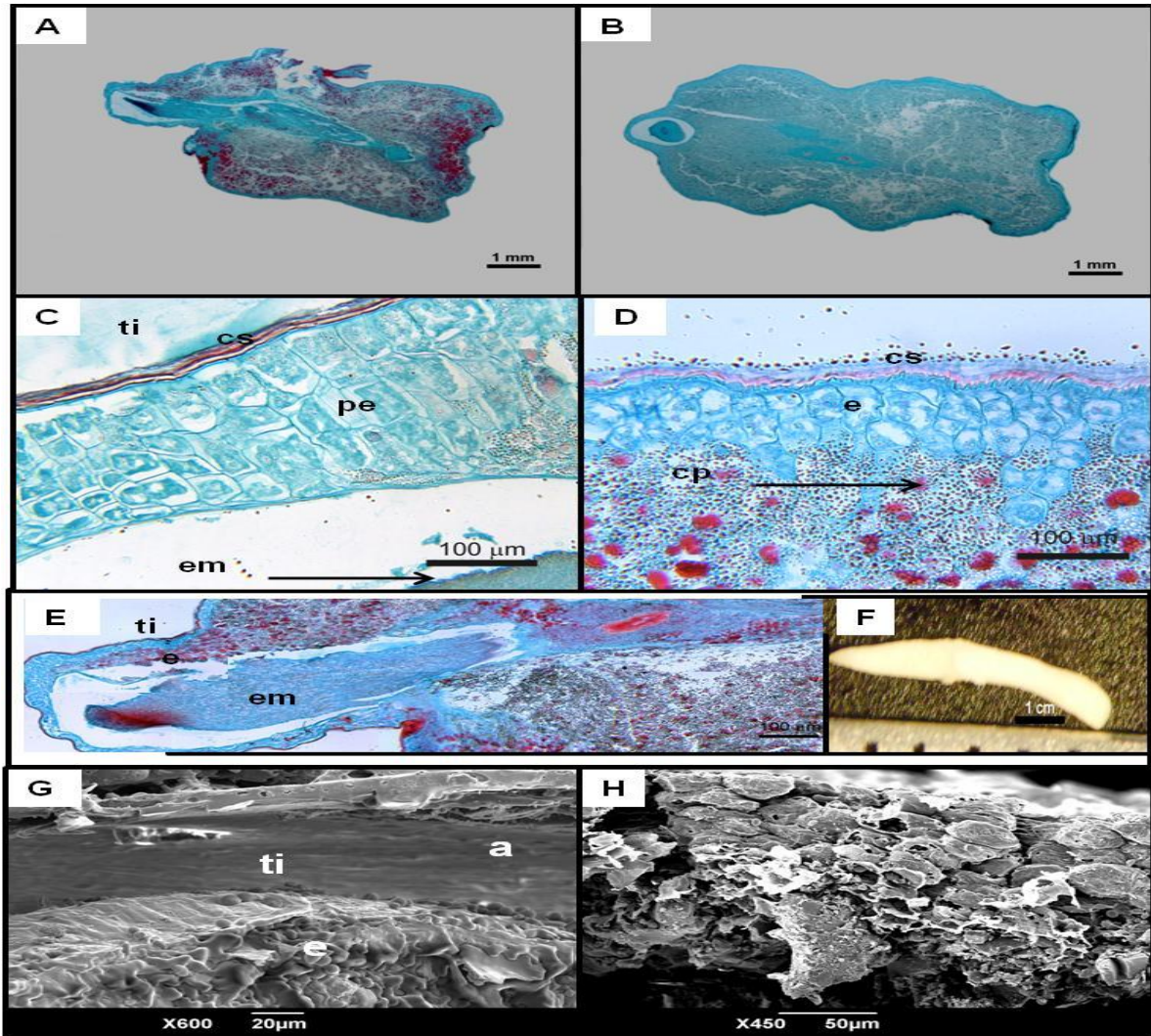


Figura II.3. Anatomía de las semillas de *Heliconia bourgaeana*. A: Corte longitudinal de la semilla; B: Corte frontal de la semilla; C: Capas externas del endospermo, ti: tegumento interno, cs: cubierta seminal, pe: parénquima en empalizada, e: endospermo, em: embrión; D: Estructuras encontradas en la pared de la semilla, cp: cuerpos proteicos; E: Corte longitudinal del endospermo de la semilla, ti: tegumento interno; F: Embrión visto al microscopio óptico; G: Presencia de almidón en la semilla visto al microscopio de luz; H: Testa de la semilla.

Rodeando al endospermo se encuentra una capa de células altamente especializadas que permanecen viables en la semilla madura. La capa de aleurona ayuda a movilizar las reservas de las semillas durante la germinación, sintetizando y secretando una variedad de enzimas hidrolíticas que participan en la degradación de proteínas, lípidos y paredes celulares del endospermo. La

segunda estructura relacionada con la movilización de las reservas del endospermo es el escutelo. En monocotiledóneas, éste es un cotiledón altamente modificado que transporta hormonas, produce enzimas digestivas y transporta nutrientes del endospermo al embrión (Ritchie *et al.*, 1999). Entre las hidrolasas más abundantes responsables de la degradación del almidón están las enzimas α y β -amilasa. La síntesis y secreción de α -amilasa es dependiente de las giberelinas que contenga la semilla (Lovegrove y Hooley, 2000).

Anatomía de semillas de *Heliconia collinsiana*

La longitud y grosor promedio de la semilla es de 1.3 cm y 1.1 cm, respectivamente; presenta una testa color café en semilla madura. La forma de la semilla es elíptica pronunciada con bordes irregulares pronunciados; el embrión presenta una longitud de 0.7 cm.



Figura II.4. Órganos reproductivos sexuales y morfología de *Heliconia collinsiana*.

A: Inflorescencia. B: Semillas. C: Vista de la semilla al microscopio óptico.

Las **Figuras II.5A y B** muestran que en las semillas de *H. collinsiana*, el embrión está bien desarrollado y sin daños. En la zona más externa de la semilla se observan varios estratos de células (**C** y **D**) componiendo la cubierta seminal. La siguiente capa presenta una coloración que sugiere la presencia de taninos cubriendo el endospermo (**D**), encontrándose presencia de fibras, elementos de vaso y parénquima como células, con contenidos celulares diferentes de almidón y taninos (coloración roja). La siguiente capa corresponde al endospermo, el cual

contiene almidón abundante (C, D y G). Las imágenes muestran que los compuestos de reserva han sido consumidos por el embrión (E y H).

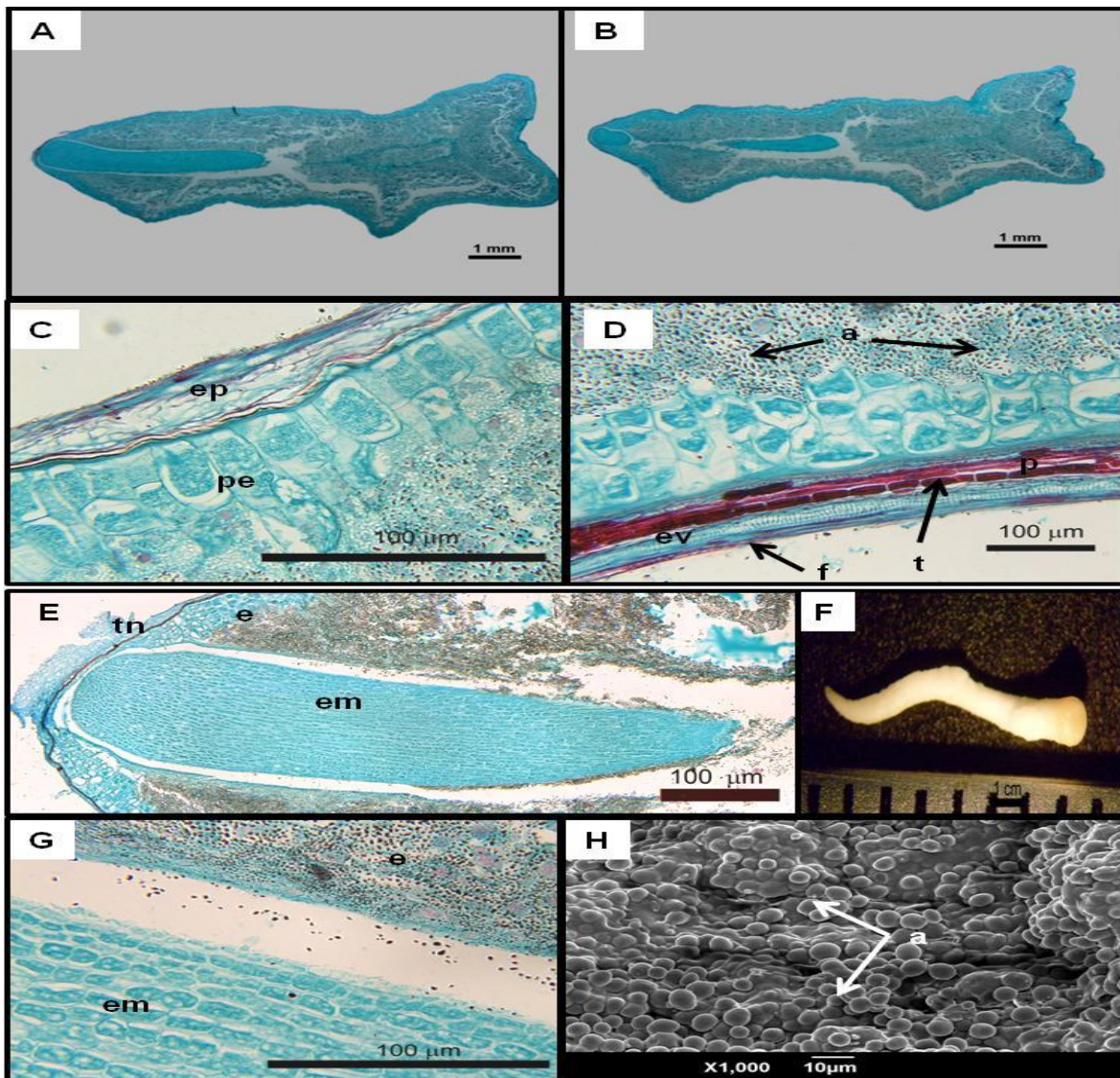


Figura II.5. Anatomía de las semillas de *Heliconia collinsiana*. A: Corte longitudinal de la semilla; B: Corte frontal de la semilla; C: Capas externas del endospermo; D: Estructuras encontradas en la pared de la semilla, ev: elementos de vaso, f: fibras, t: taninos, p: parénquima, a: almidón; E: Corte longitudinal del endospermo de la semilla e: endospermo, em: embrión; F: Embrión de la semilla vista al microscopio óptico; G: Presencia de almidón en la semilla visto al microscopio de luz; H: Espacio entre el embrión y el endospermo que muestra el consumo de reservas.

El contenido de taninos observado podría actuar como mecanismo de protección y regulación de la permeabilidad. La acumulación de compuestos fenólicos es ventajosa, debido a que pueden ligarse a polisacáridos de las paredes celulares, incrementando su rigidez y resistencia a la biodegradación y por otra parte pueden ser tóxicos en grados variables a diferentes predadores (Werker *et al.* 1979). Asimismo, la acumulación de grasas pudiese asociarse con impermeabilización de semillas y quizás con un reservorio energético para el desarrollo posterior del embrión.

Anatomía de semillas de *Heliconia latispatha*

El promedio de la longitud de la semilla de *Heliconia latispatha* es de 0.80 cm y su diámetro es de 0.60 cm; su testa es color café oscuro en semillas maduras y la textura de la testa es rugosa al tacto (**Figura II.4**). La semilla es de forma rectangular o elíptica, con bordes pronunciados ondulados.

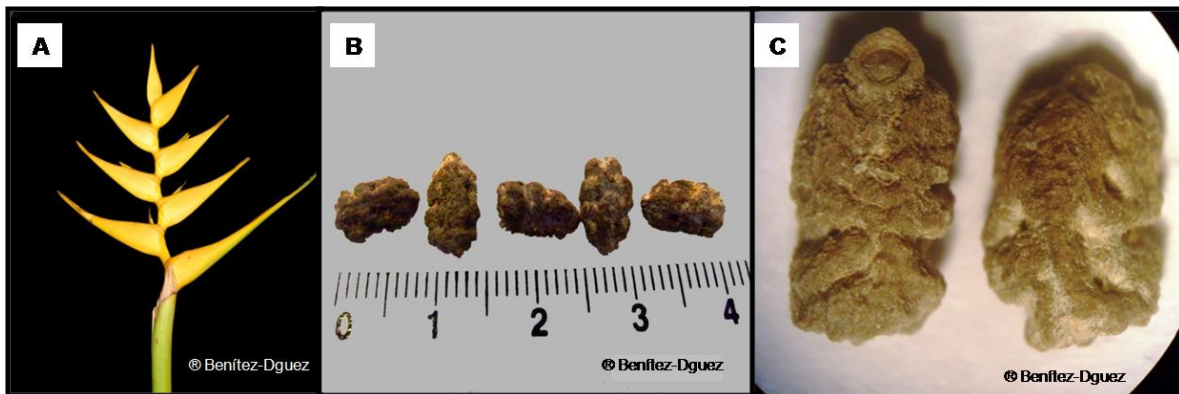


Figura II.6. órganos reproductivos sexuales y morfología de *Heliconia latispatha*.

A: Inflorescencia. B: Semillas. C: Vista de la semilla al microscopio óptico.

El embrión es alargado con forma de torpedo visto en corte longitudinal, diferenciándose la zona que dará origen a la raíz y la parte aérea (**A, B, C y D**). Se compone de un estrato con células aplanadas y bordes poco definidos, con formación de cristales que podrían tratarse de proteínas. Un estrato de células

teñidas en rojo podría indicar la presencia de abundantes taninos (E). También se observa gran cantidad de sacos que contienen almidón (F).

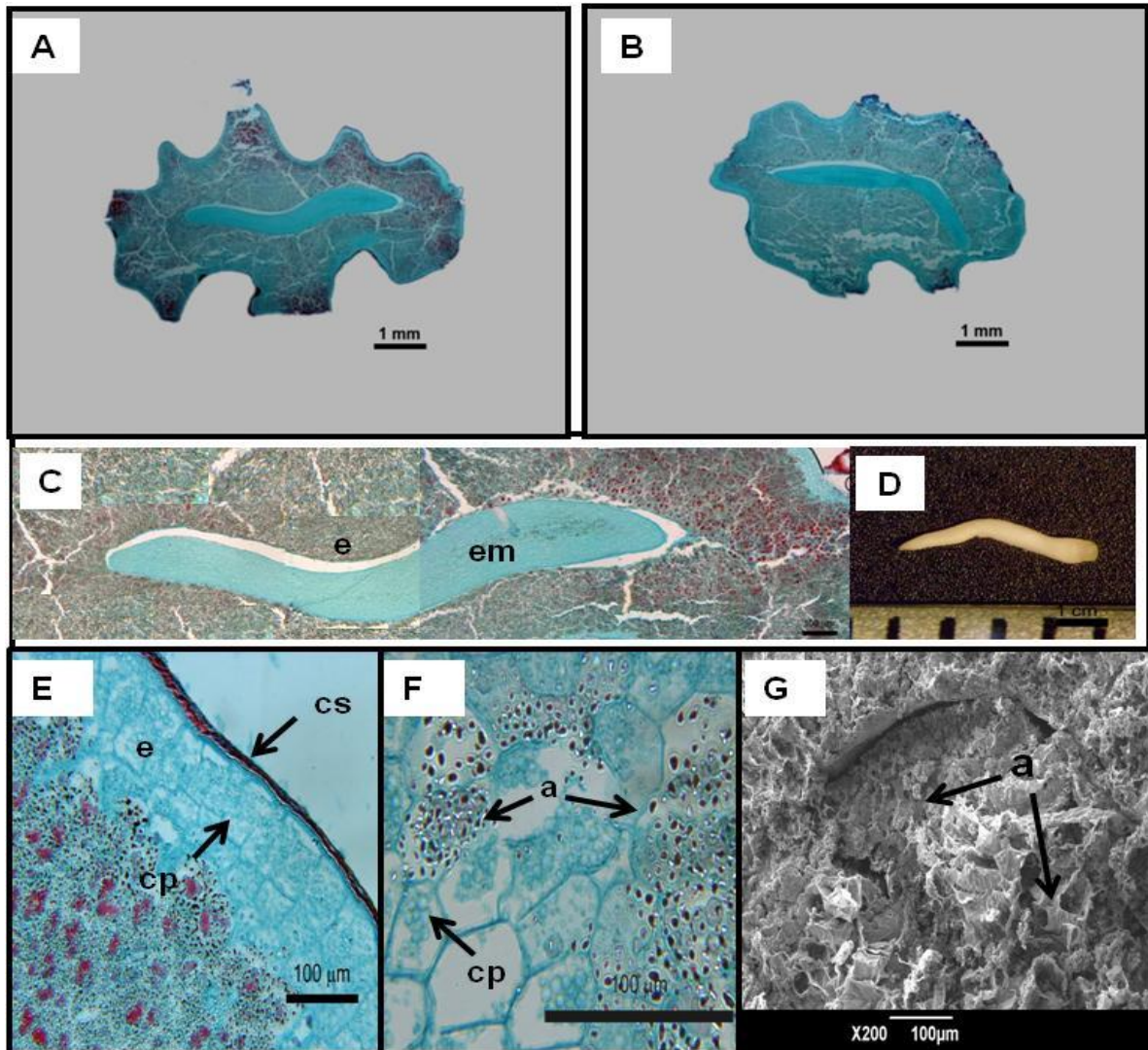


Figura II.7. Anatomía de las semillas de *Heliconia latispatha*. A: Corte longitudinal de la semilla; B: Corte frontal; C: Corte longitudinal del embrión de la semilla; D: Embrión visto al microscopio óptico; E: Endospermo cp: cuerpos proteicos, e: endospermo, cs: cubierta seminal. F: Formación de cristales en cuerpos de proteínas, a: almidón G: sacos de almidón.

Anatomía de las semillas de *Heliconia psittacorum*

En la **Figura II.8** se presentan diversos cortes de semillas de la especie *Heliconia psittacorum*. La longitud y diámetro promedio de la semilla de esta especie es de 1

cm y 0.8 cm, respectivamente, y presenta una testa color café muy madura. En la testa se observa una composición de estratos lisos que forman estructuras rectangulares; al tocarse, las semillas son ásperas y rugosas, posiblemente por la unión de las células para formar las estructuras rectangulares.



Figura II.8. Órganos reproductivos sexuales y morfología de *Heliconia psittacorum*. A: Inflorescencia. B: Semillas. C: Vista de la semilla al microscopio óptico.

La forma de la semilla es elipsoide, con bordes irregulares poco pronunciados en base al corte longitudinal (**Figuras II.9A y B**).

En la parte más externa de la cubierta del endospermo, se evidencia el tegumento interno, el cual está constituido por presencia de fibras, elementos del vaso, una nueva capa de fibras, células de parénquima completamente teñidas de rojo lo cual sugiere gran cantidad de taninos, el siguiente estrato con presencia de tejido nucelar, seguida de una capa de células de parénquima en empalizada que compone el endospermo, así como gran cantidad de gránulos de almidón (**C y D**). La presencia de taninos indica la existencia de mecanismos de protección ante el ataque por organismos. Debajo de esta capa se encuentran varios estratos de células de parénquima, de forma rectangular y cuyo grosor depende de la zona en que se observe. El siguiente estrato es el endospermo que constituye la principal fuente de reserva de la semilla.

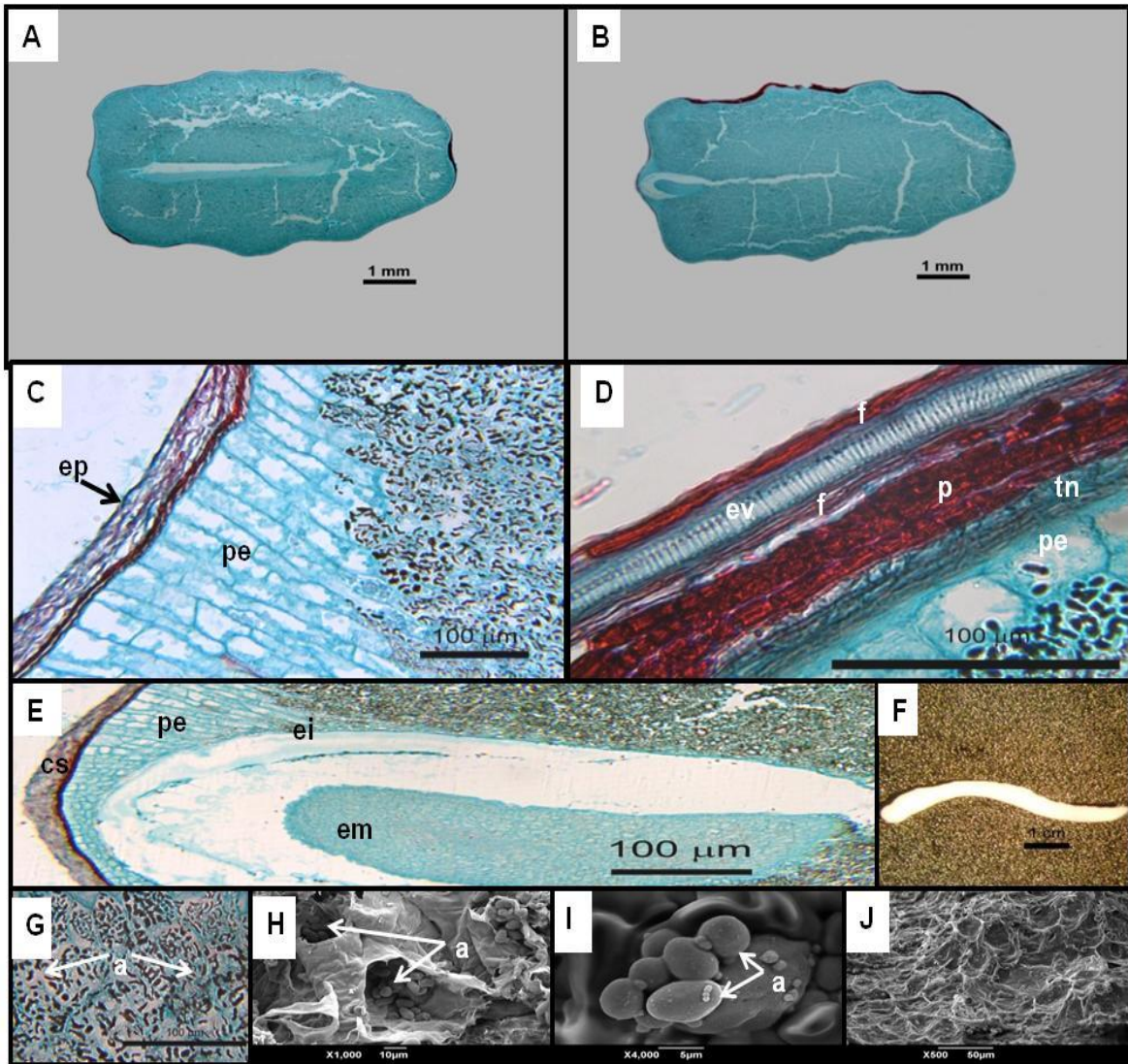


Figura II.9. Anatomía de las semillas de *Heliconia psittacorum*. A: Corte longitudinal de la semilla; B: Corte frontal de la semilla; C: Capas externas del endospermo; D: Estructuras encontradas en la pared de la semilla, f: fibras, ev: elementos de vaso, p: parénquima, tn: tejido nucelar; E: Corte longitudinal del endospermo de la semilla; F: Embrión de la semilla vista al microscopio óptico, cs: cubierta seminal, pe: parénquima en empalizada, ei: espacio intercelular ; G: Presencia de almidón en la semilla visto al microscopio de luz; H: Sacos de almidón en el endospermo vistos al microscopio electrónico; I. Gránulos de almidón de la semilla vistos al microscopio electrónico; J: Vista de la testa de la semilla al microscopio electrónico.

El embrión muestran un haz vascular en la zona cercana a la periferia de la semilla, el cual es necesario para la imbibición, asociado al micrópilo e hilo de la

semilla; el embrión es alargado, con forma de torpedo visto en corte longitudinal, diferenciándose la zona que dará origen a la raíz y la parte aérea. El espacio que se observa entre el embrión y el endospermo indica que existió consumo de compuestos de reserva (**E** y **F**).

La tinción con Lugol reveló la presencia de almidón en el endospermo, constituyendo el compuesto de reserva más importante en la semilla, lo cual fue confirmado al microscopio de luz (**G** y **H**). Adicionalmente, observaciones del material en fresco al microscopio óptico, mostraron la presencia de material aceitoso.

En la testa se observaron gránulos que posiblemente tratan formaciones de calcio o de almidón que se desprendieron del endospermo al momento del corte (**I** y **J**).

[García et al. \(1999\)](#) realizaron estudios de la estructura de la semilla de aguacate así como la cuantificación de grasa utilizando microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido, y encontraron que las células del parénquima de cotiledones almacenan la mayor cantidad de almidón, mientras que en el embrión se almacena la mayor parte de la grasa. En la cubierta seminal observaron, el esclerénquima perfectamente definido y sacos de taninos (que aparecieron de color café a rojo).

Con este estudio se demuestra que la impermeabilidad encontrada en las semillas de las distintas especies de heliconia es ocasionada por la dureza de la testa y que entre las especies estudiadas existen diferencias en el número de capas que componen el endospermo, al igual que la presencia de taninos. En el caso de *Heliconia psittacorum* se observa mayor cantidad de estos compuestos en la cubierta seminal que rodea al endospermo. Por otra parte, para el caso de *Heliconia latispatha* y *Heliconia bourgaeana*, la mayor concentración de taninos se encontró en casi todo el endospermo y embrión.

Dado que las determinaciones fueron hechas con semillas almacenadas por un año, es necesario también hacer ensayos con semillas frescas, e inmaduras, ya que presentan la mayor actividad en división celular y mostraría con mayor exactitud la formación y cuantificación de las capas que componen la testa y endospermo.

Dentro de las semillas estudiadas, las de *H. psittacorum* mostraron mayor estratificación en las capas que componen la cubierta seminal, así como mayor cantidad de taninos, por lo que se puede asumir que éstas presentan mayor grado de impermeabilidad en comparación con el resto. La presencia de estos compuestos puede ser un componente esencial de algún mecanismo fisiológico-bioquímico de protección contra el ataque por organismos patógenos o predadores.

La impermeabilidad al agua, es en gran medida debida a las cubiertas presentes en las semillas, y representa una de las causas más comunes de dormancia de las mismas. En este caso, los diferentes tejidos de la semilla no pueden imbibirse y ésta permanece deshidratada, con lo que la germinación no es posible, aunque el resto de las condiciones ambientales sean idóneas. Cuando las cubiertas impermeables se desgastan y van cediendo a las causas de la impermeabilidad, es cuando la semilla estará en condiciones de germinar ([García et al., 1999](#)).

La información sobre los mecanismos que determinan la impermeabilidad y sobre la localización de ésta en las cubiertas seminales es aun limitada. Se ha atribuido a la cutícula y/o a la capa de macroesclereidas la impermeabilidad de las cubiertas en leguminosas. En algunas especies de esta misma familia, se ha destacado la importancia que juegan diversas estructuras de la cubierta, como el hilo y estrofilo, en la regulación de la entrada de agua a la semilla. Los compuestos fenólicos presentes en las cubiertas son capaces de fijar, por oxidación, parte del oxígeno que penetra a través de éstas y que se encuentra disuelto en el agua. Este mecanismo se ha descrito como responsable, en parte, de la baja germinación de

algunos cultivares de remolacha (*Beta vulgaris*), de manzano (*Malus domestica*) y cebada (*Hordeum vulgare*) (García *et al.*, 1999).

Ali-Rachedi *et al.* (2004) reportaron que las semillas del ecotipo CVi de *Arabidopsis thaliana* muestran marcada dormancia y son incapaces de germinar en condiciones que otras semillas si pueden. Dicha dormancia es superada si las semillas son sometidas a estratificación o a tratamientos de nitrato. La adición de giberelinas no suprime la dormancia, lo que sugiere que éstas no están relacionadas con el control del fenómeno observado. Por otro lado, la dormancia de estas semillas depende fuertemente de la temperatura: las semillas no germinan a temperaturas altas (20–27°C), pero sí lo hacen a temperaturas bajas (13°C). En comparación con las semillas que no presentaban dormancia, las semillas que si lo hacían presentaban mayores contenidos de ABA. Al tratar las semillas para reducir su dormancia, los contenidos de ABA disminuyeron a niveles muy similares a los encontrados en las semillas que no presentaban dormancia.

En esta investigación de maestría, el procesamiento para analizar la permeabilidad de la testa de las semillas resultó complicado, dado que ésta es una estructura dura y los protocolos usados en rutinas para observaciones al microscopio no lograron ablandarla, e incluso fue resistente al Reactivo de Jeffrey que se utiliza para disociar material. Por esta razón fue necesario eliminar esta estructura manualmente para seguir con el estudio.

Anatomía de las semillas de *Heliconia rostrata*

En el caso de la especie *Heliconia rostrata*, ésta presentó una testa muy adherida al endospermo, por lo que la extracción del mismo imposibilitó la obtención de dicho material para el análisis anatómico.

En la Figura II.10 se muestran los órganos reproductivos sexuales de esta especie, pero no se pudieron mostrar los estudios anatómicos debido a las razones antes citadas.



Figura II.10. Órganos reproductivos sexuales y morfología de *Heliconia rostrata*.

A: Inflorescencia. B: Semillas. C: Vista de la semilla al microscopio óptico.

II.7.3. Contenido de ácido abscísico en semillas

Las semillas de las cinco especies de heliconias presentaron contenidos diferentes de ácido abscísico endógeno ($P \leq 0.05$) (Figura II.11).

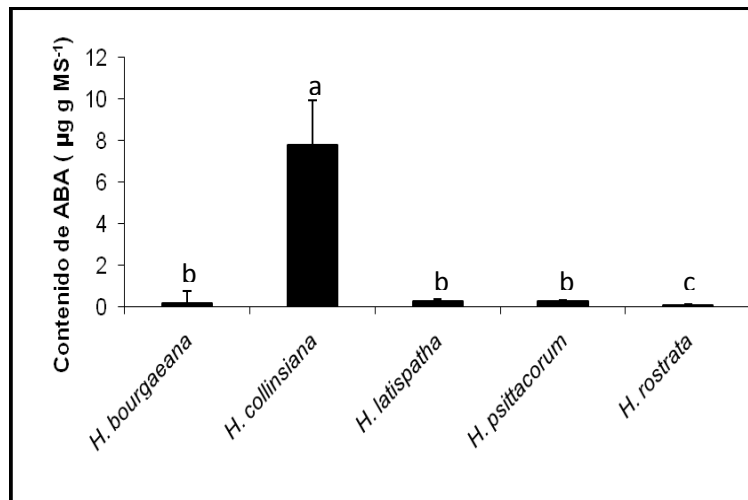


Figura II.11. Concentraciones de ácido abscísico (ABA) en semillas de cinco especies de heliconias. Los datos son medias de cuatro mediciones independientes. Las barras sobre las columnas indican desviación estándar.

La mayor concentración ($7.8 \mu\text{g g}^{-1}$ MS) se observó en semillas de la especie *H. collinsiana*, seguidas de *H. psittacorum* ($0.26 \mu\text{g g}^{-1}$ MS) y *H. latispatha* ($0.25 \mu\text{g g}^{-1}$ MS). Los menores niveles de esta fitohormona los presentaron *H. bourgaeana* ($0.15 \mu\text{g g}^{-1}$ MS) y *H. rostrata* ($0.09 \mu\text{g g}^{-1}$ MS).

[Ali-Rachedi et al. \(2004\)](#) reportaron que en comparación con las semillas que no presentaron dormancia, las semillas que si lo hacían mostraron contenidos más altos de ABA. Al tratar las semillas para reducir su dormancia, los contenidos de ABA disminuyeron a niveles muy similares a los encontrados en las semillas no latentes.

Es conocido que la concentración de ABA durante el desarrollo temprano de las semillas es baja, tiende a aumentar a la mitad del desarrollo, cuando las sustancias de reserva están siendo sintetizadas y finalmente decae al alcanzar la semilla su completa maduración y desecación. Las semillas en desarrollo raramente muestran germinación precoz y cuando lo hacen, este fenómeno se asocia frecuentemente a deficiencias en la síntesis de ABA o a una disminución en la sensibilidad de los tejidos a esta hormona ([Bewley 1997](#); [Merlot y Giraudat 1997](#) [Finkelstein, 2007](#)).

El ABA inhibe la síntesis de enzimas hidrolíticas que son esenciales para la movilización de las reservas en las semillas por ejemplo α -amilasa actuando en forma antagónica a las giberelinas.

Aunque existe poca información sobre la función del ABA como regulador endógeno de la función principal de la aleurona en cereales, se ha descubierto un receptor de ABA en la membrana plasmática de las células de la aleurona, y también un receptor citoplasmático ([Lovegrove y Hooley, 2000](#)). En cebada, el ABA previene el incremento en calcio, estimulado por giberelinas, y en la ausencia de estas fitohormonas se ha propuesto que una alta concentración de ABA

disminuye el calcio por la activación de una Ca^{2+} -ATPasa en la membrana plasmática (Lovegrove y Hooley, 2000).

Para continuar con el estudio de este fenómeno en semillas de heliconias, en futuros experimentos será necesario probar diferentes periodos de desarrollo de las semillas, así como diferentes periodos de almacenamiento, y correlacionar estas variables independientes con el contenido de ABA y de otras fitohormonas en dichas semillas.

II.7.4. Contenido de nutrimentos en semillas

Contenido de macronutrimentos

En la **Figura II.12** se puede observar que el mayor contenido de nitrógeno (N) se presentó en semillas de la especie *H. latispatha*, seguido de *H. rostrata* y *H. psittacorum*. El menor porcentaje de este nutrimento se observó en *H. bourgaeana* y *H. collinsiana*.

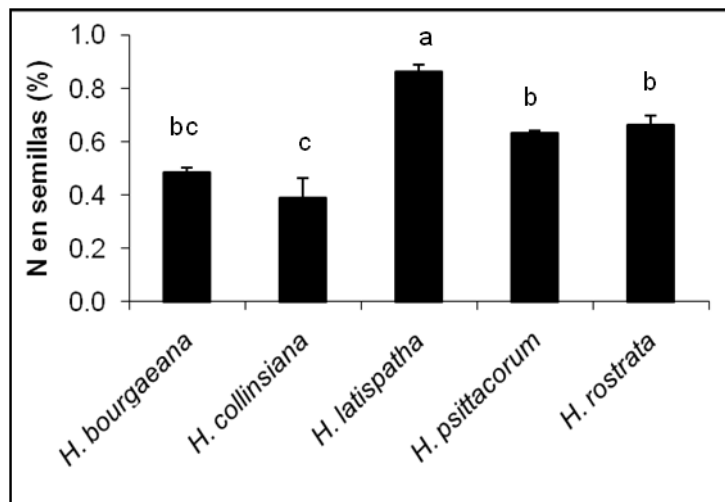


Figura II.12. Porcentaje de nitrógeno (N) en semillas de cinco especies de heliconias. Las columnas son medias de tres repeticiones. Las barras sobre las columnas indican desviación estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre especies ($P \leq 0.05$).

Aunque no existen reportes sobre el contenido nutrimental de semillas, [Broschat y Donselman \(1983a\)](#) reportaron que las deficiencias de N son muy frecuentes en las plantas de heliconias y se manifiesta por un amarillamiento general del follaje y disminución del crecimiento.

En tejido foliar, [Auerbach y Strong \(1981\)](#) reportaron 1.76% de N en *H. imbricata* y 3.01% en *H. latispatha*; en comparación, especies del género *Musa* logran acumular más de 3% de N en su follaje, el cual es muy inferior al encontrado en semillas en esta investigación.

[Broschat y Donselman \(1983b\)](#) encontraron que *H. psittacorum* responde positivamente a altos niveles de N, por lo que se recomiendan aplicaciones de 650 g N m⁻² año⁻¹, y de un equilibrio de 3N-1P-2K mediante abonos de lenta liberación en el momento de la plantación y posteriormente cada año.

Por su parte, [Clemens y Morton \(1999\)](#) afirmaron que aplicaciones de 1.2 kg N m⁻³ año⁻¹ ocasionan máximo peso de inflorescencia, área foliar y peso de todas las partes vegetativas.

Los contenidos de N encontrados en las semillas fueron bajos, si se les compara con algunas otras especies. Sin embargo, los demás nutrimentos analizados muestran valores normales o altos.

Para el caso del fósforo (P), el mayor contenido se presentó en semillas de la especie *H. rostrata*. Las especies *H. bourgaeana*, *H. collinsiana* y *H. latispatha* presentaron valores intermedios de P, en tanto que *H. psittacorum* presentó los niveles más bajos. El menor porcentaje de este nutrimento se observó en *H. psittacorum* (**Figura II.13**).

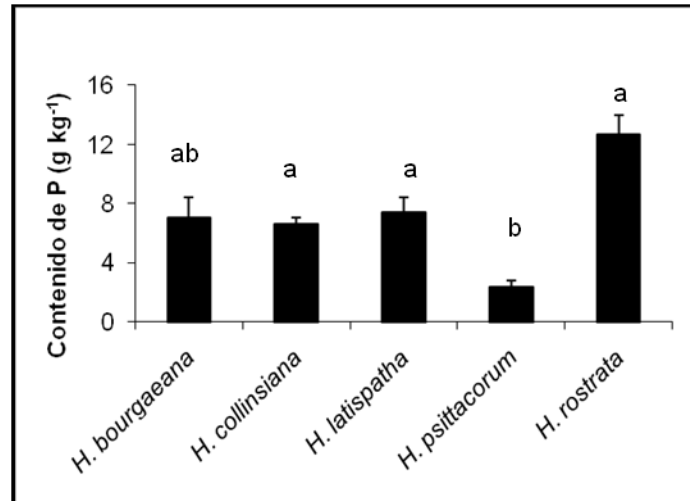


Figura II.13. Contenido de fósforo (P) en semillas de cinco especies de heliconias. Las columnas son medias de tres repeticiones. Las barras sobre las columnas indican desviación estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre especies ($P \leq 0.05$).

Castro *et al.* (2007) reportaron que la deficiencia de N, P o K en el cultivar 'Golden Torch' (*H. psittacorum* x *H. spathocircinata*) ocasiona reducciones significativas del diámetro y longitud del tallo, así como del tamaño de la inflorescencia.

Contrario a lo observado para P, el contenido de potasio (K) en semillas fue mayor en *H. psittacorum*, en tanto que *H. rostrata* y *H. bourgaeana* presentaron valores intermedios. Los menores valores para este elemento se observaron en *H. latispatha* (**Figura II.14**).

En *H. angusta* y *H. stricta*, Boschhat (1989) reportó que la deficiencia de K se presenta con frecuencia y que se manifiesta como una necrosis marginal de las hojas viejas, acompañada de una necrosis marginal e intervenal.

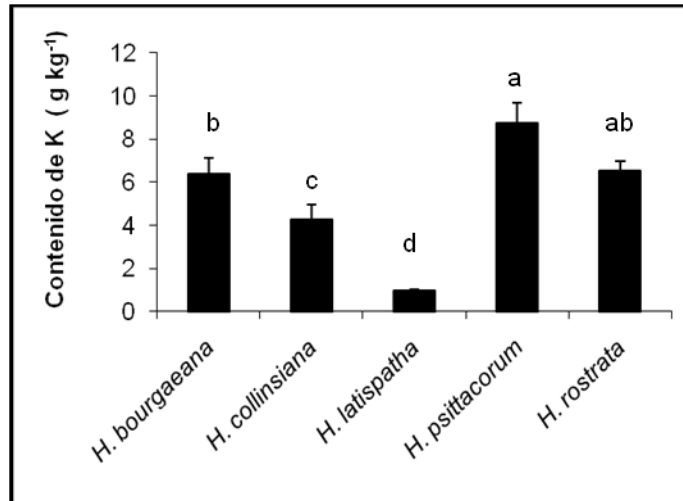


Figura II.14. Contenido de potasio (K) en semillas de cinco especies de heliconias. Las columnas son medias de tres repeticiones. Las barras sobre las columnas indican desviación estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre especies ($P \leq 0.05$).

El mayor contenido de calcio (Ca) se observó en semillas de *H. collinsiana*, en tanto que *H. bourgaeana*, *H. latispatha* y *H. rostrata* presentaron valores intermedios. Los menores valores para este elemento se observaron en *H. psittacorum*.

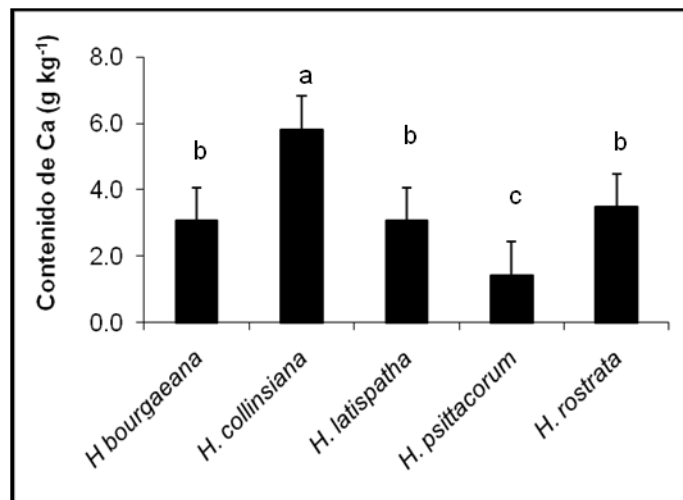


Figura II.15. Contenido de calcio (Ca) en semillas de cinco especies de heliconias. Las columnas son medias de tres repeticiones. Las barras sobre las columnas indican desviación

estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre especies ($P \leq 0.05$).

El mayor contenido de magnesio (Mg) se presentó en *H. rostrata*, pero este valor estuvo muy cercano al observado en *H. bourgaeana*, *H. collinsiana* y *H. latispatha*. Los menores valores para este elemento se observaron en *H. psittacorum*.

En *H. psittacorum*, [Boschat y Donselman \(1983a\)](#) encontraron que la deficiencia de Mg aparece primero en hojas más viejas y se caracteriza por amarillamiento del borde de las hojas.

En plantas deficientes de Mg se observan mayores niveles de carbohidratos en la parte aérea que en la parte subterránea, lo que ocasiona menor translocación de estos compuestos a los tallos florales, con lo que se reduce la vida de florero de éstos. Este mismo comportamiento se observa en plantas deficientes de N, P y K ([Nowak y Rudnicki, 1990](#); [Castro et al., 2007](#)).

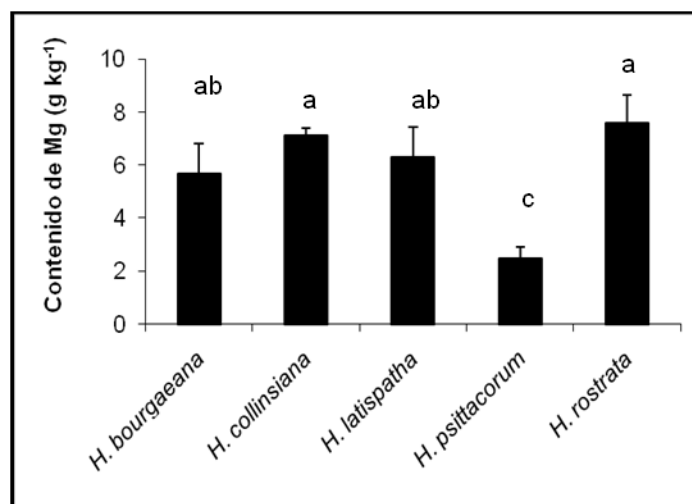


Figura II.16. Contenido de magnesio (Mg) en semillas de cinco especies de heliconias. Las columnas son medias de tres repeticiones. Las barras sobre las columnas indican

desviación estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre especies ($P \leq 0.05$).

Contenido de micronutrientes

En general, los mayores contenidos de los cinco micronutrientes evaluados (Fe, Cu, Zn, Mn y B) se observaron en semillas de *H. rostrata*, en tanto que los menores niveles se registraron en *H. psittacorum*. Las otras tres especies (*H. bourgaeana*, *H. collinsiana* y *H. latispatha*) presentaron valores intermedios de estos microelementos evaluados (**Figuras II.17 a la II.21**).

Las carencias de Fe y Mn son frecuentes en plantas de *H. psittacorum* y en el cultivar 'Golden Torch', cuando se cultivan en suelos alcalinos ([Boschat y Donselman, 1983a](#)).

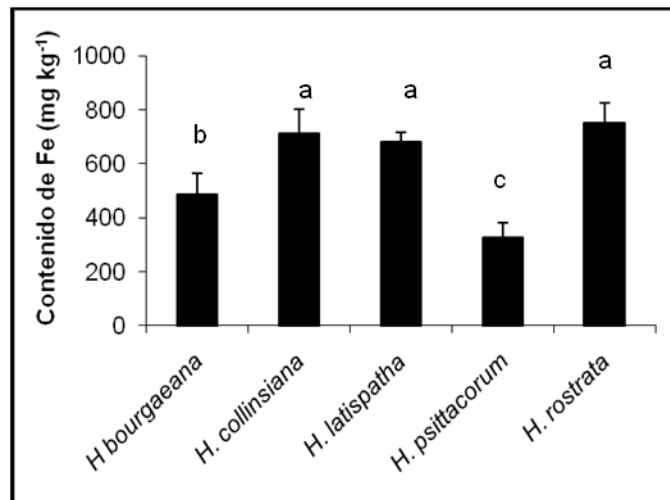


Figura II.17. Contenido de hierro (Fe) en semillas de cinco especies de heliconias. Las columnas son medias de tres repeticiones. Las barras sobre las columnas indican desviación estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre especies ($P \leq 0.05$).

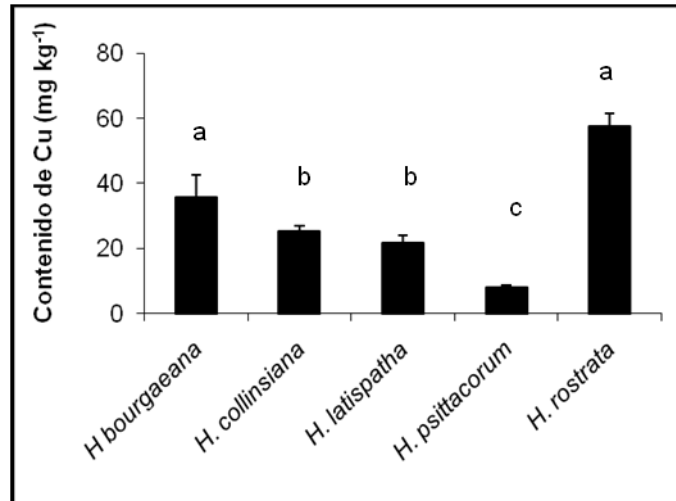


Figura II.18. Contenido de cobre (Cu) en semillas de cinco especies de heliconias. Las columnas son medias de tres repeticiones. Las barras sobre las columnas indican desviación estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre especies ($P \leq 0.05$).

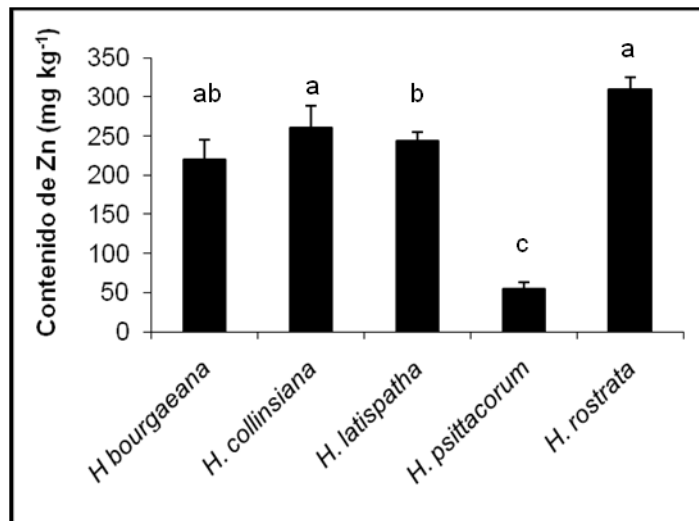


Figura II.19. Contenido de zinc (Zn) en semillas de cinco especies de heliconias. Las columnas son medias de tres repeticiones. Las barras sobre las columnas indican desviación estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre especies ($P \leq 0.05$).

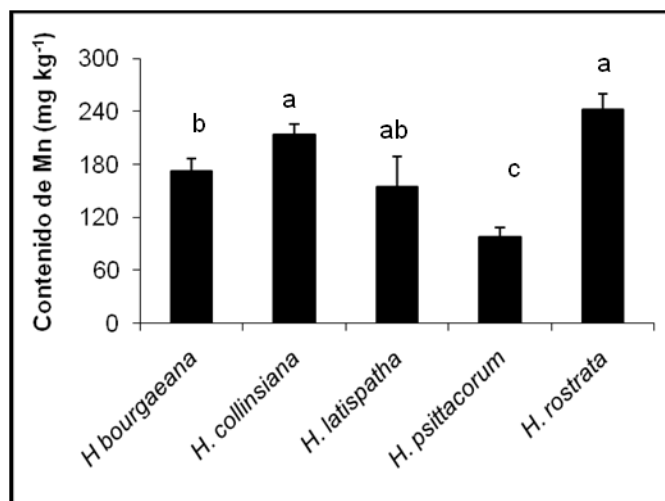


Figura II.20. Contenido de manganeso (Mn) en semillas de cinco especies de heliconias. Las columnas son medias de tres repeticiones. Las barras sobre las columnas indican desviación estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre especies ($P \leq 0.05$).

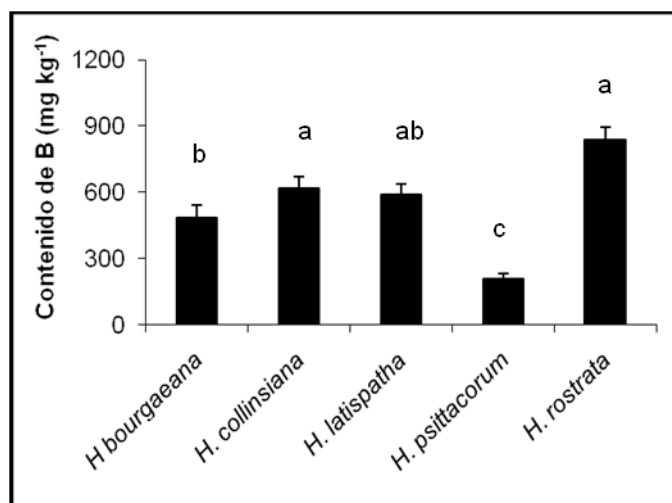


Figura II.21 Contenido de boro (B) en semillas de cinco especies de heliconias. Las columnas son medias de tres repeticiones. Las barras sobre las columnas indican desviación estándar. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre especies ($P \leq 0.05$).

II.7.5. Porcentaje de germinación de las semillas

En la **Figura II.22** se puede observar el porcentaje de germinación (total, independiente de los tratamientos de escarificación probados) de semillas de las cinco especies de heliconias estudiadas, a través de los 85 días de evaluación. Al término de este periodo, el mayor porcentaje de germinación se observó en *H. psittacorum*, seguida de *H. collinsiana*, en tanto que el porcentaje más bajo se obtuvo en *H. rostrata*.

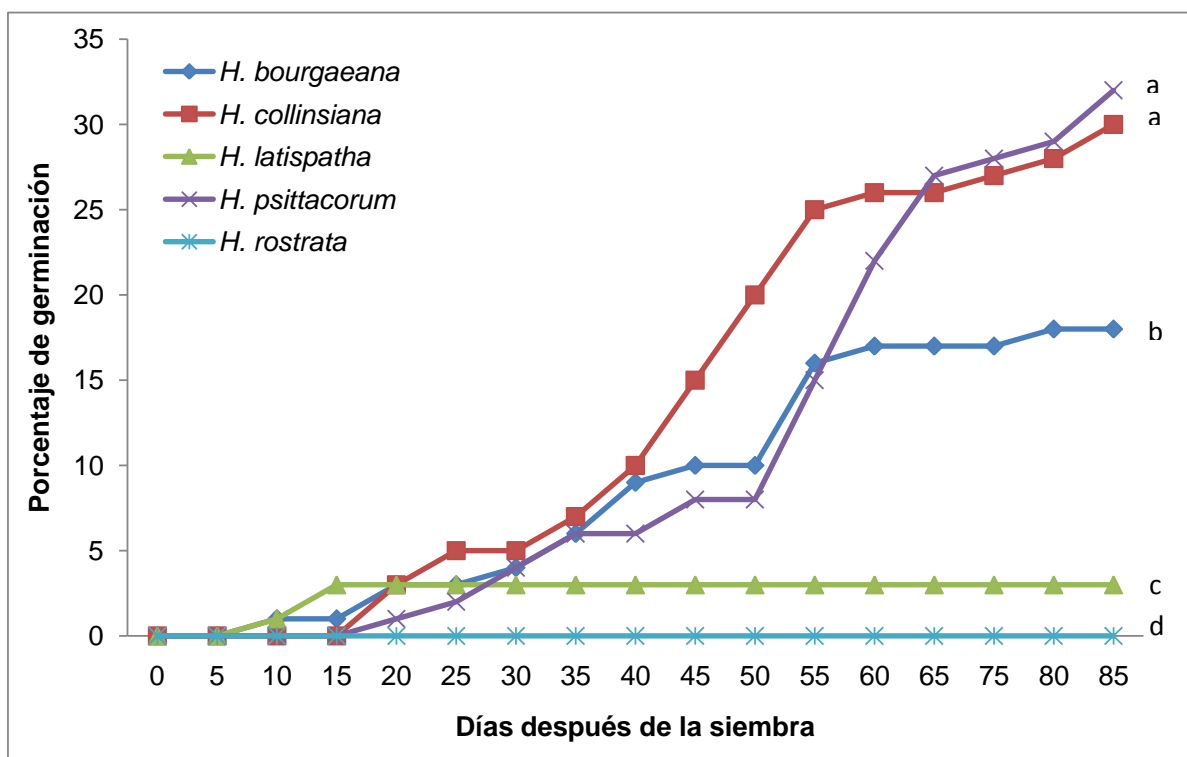


Figura II.22. Porcentaje de germinación de semillas de cinco especies de heliconias. Las líneas representan medias de tres repeticiones. Letras distintas sobre las líneas indican diferencias estadísticas significativas entre especies ($P \leq 0.05$).

En el **Cuadro II.2** se presentan los promedios del porcentaje de germinación *in vitro* de semillas de cinco especies de heliconias cuantificados a través de experimentos independientes, por efecto de diferentes tratamientos de

[Kress y Roesel \(1987\)](#) encontraron que el almacenaje de semillas de *H. stricta* por dos semanas previas a su siembra estimuló la velocidad y el porcentaje de germinación, en comparación con semillas cosechadas y sembradas en fresco. Sin embargo, en un experimento similar con *H. aurantiaca*, no se encontraron diferencias en la germinación entre semillas conservadas por dos semanas o sembradas inmediatamente después de su cosecha.

A este respecto, [Castañeda-Castro \(2002\)](#) demostró que la escarificación física de semillas de *H. collinsiana* permite que más del 90% de semillas frescas logre germinar en periodos de tres meses, cuando son establecidas en medios de cultivo MS. Estos resultados coinciden con lo reportado por [Vidal-Morales \(2007\)](#) y por [Solís-Tlazalo \(2007\)](#).

Con este estudio se demuestra que el porcentaje de germinación de semillas de heliconias es un fenómeno complejo que puede variar de un año a otro, por efectos relacionados con el ambiente (variación de la temperatura, la precipitación y la humedad relativa) y por el periodo de almacenamiento a que las semillas sean sometidas.

Por otro lado, queda de manifiesto que las semillas frescas, desarrolladas en condiciones óptimas para que logren su maduración en la planta, logran porcentajes de germinación más elevados que las almacenadas por más de un año.

[Barreiros \(1972\)](#) y [Montgomery \(1986\)](#), mencionan que para que exista una dispersión de las semillas por estas deben de pasar por el tracto digestivo de los aves frugívoras, y se pueda romper el endocarpo lignificado adherido a las semillas ([Barreiros, 1974](#); [Mello y Santos, 1987](#)). Sin embargo, [Stiles \(1985\)](#), recalca que estas aves se alimentan de la parte carnosa de los frutos (drupa) y luego regurgitan las semillas. En algunas monocotiledóneas con frutos

indehiscentes, la función de protección se hace por el pericarpio, aunque en la mayoría de las monocotiledóneas, esto se presenta por el tegumento (Danilova *et al.*, 1995). El endocarpo duro puede representar una barrera para el embrión, lo que hace difícil una germinación rápida, como se sugiere Graven *et al.* (1996) en las especies de la familia Musaceae.

Por su parte, Montgomery (1986), Criley (1988) y Castro (1995), mencionan que el rango de germinación de semillas puede ser de tres meses a tres años, y depende del grado de desarrollo que presente el embrión al momento de la madurez de las drupas, y que las semillas de especies de lugares húmedos por lo general toman menos tiempo para germinar, mientras que las de las zonas secas decaen la germinación y se incrementa hasta que las condiciones ambientales se favorecen. Temperatura y estado de desarrollo del embrión podrían también influir de forma directa en el inicio del período de germinación. Sin embargo, Criley (1988), sostiene que la escarificación no acelera la germinación de las especies de Heliconia. Graven *et al.* (1996) también reportaron que la eliminación del opérculo no aumenta o acelera la germinación de las especies de Musaceae, pues con esta eliminación que permitió que el agua alcanzara el embrión, no fue posible la hidratación, probablemente, debido a que en ambas familias (Heliconiaceae y Musaceae) el embrión presenta latencia al momento de la madurez de la fruta.

Los bajos porcentajes durante esta investigación posiblemente se deban a que las semillas de esta especie son recalcitrantes y la viabilidad de las semillas se abate considerablemente cuando el contenido de agua se reduce por abajo del 30% (Greggains *et al.*, 2000). Estas semillas no pueden ser almacenadas por periodos largos y son susceptibles a las bajas temperaturas en el almacén (Roberts, 1973).

La recalcitrancia de las semillas es frecuente tanto en angiospermas como en gimnospermas. Los árboles que producen semillas recalcitrantes se restringen típicamente a ambientes tropicales acuáticos y semiacuáticos (Tweddle *et al.*,

2003), donde la germinación y establecimiento de las plántulas puede ocurrir en cualquier época del año (Kainer *et al.*, 1999). Estas semillas se dispersan cuando aún no ha perdido agua o bien mantenerse unidas a la planta madre y seguir acumulando peso seco y continuar con su metabolismo activo.

II.7.6. Presencia de patógenos en semillas

En esta investigación fue posible identificar cinco especies de hongos fitopatógenos en las semillas de heliconias.

Género *Aspergillus*

En *Heliconia bourgaeana* fue posible detectar la presencia de *Aspergillus* sp. Se observó una colonia de color negro a verde oscuro, micelio blanquecino poco algodónoso, de color amarillo a beige al envés de la caja. Este es un hongo imperfecto que presenta cabezas conidiales lisas de una pared redonda, dispuesta en forma radial, y hay conidios abundantes desprendiéndose de la cabeza (**Figura II.23A**). Por otra parte, en *H. latispatha* se pudo detectar la presencia de *Aspergillus fumigatus* (**Figura II.23B**).

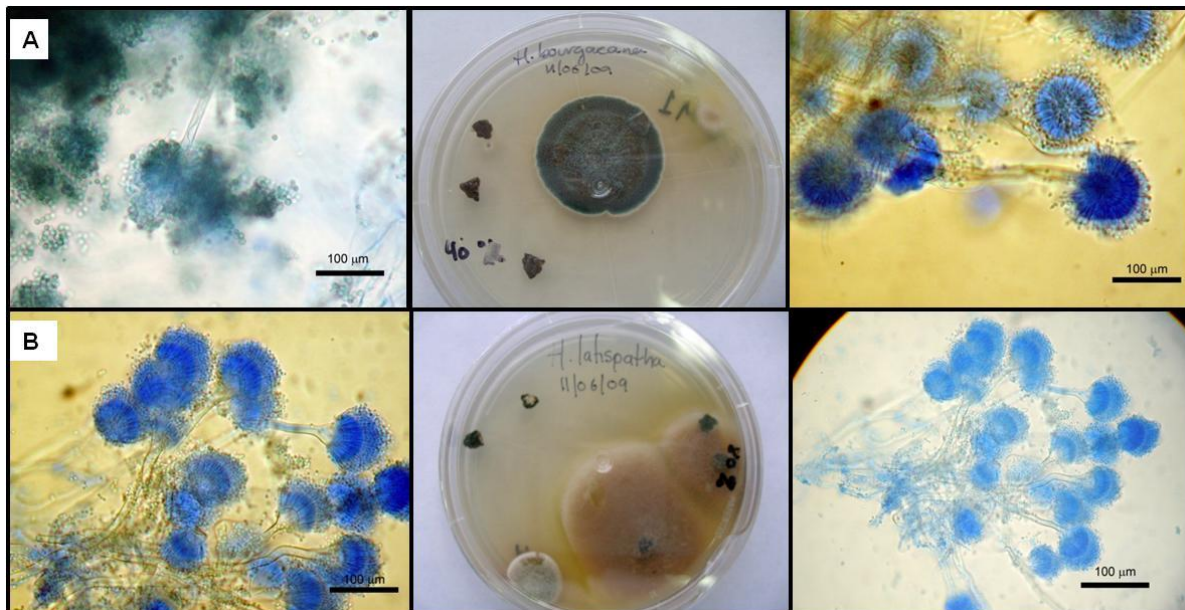


Figura II.23. Hongos fitopatógenos del género *Aspergillus* en semillas de heliconias. A: *Aspergillus* sp. en semillas de *H. bourgaeana*; crecimiento en caja petri; cabezas conidales con abundantes conidios B: *A. fumigatus* en semillas de *H. latispatha*.

Estos hongos inhiben la germinación y causan cambios de color, calentamiento, amohosado, apelmazado y finalmente pudredumbre de la semilla. Utilizan en las proteínas, los almidones y las grasas de reserva de la semilla, causando su deterioro. En particular, reducen la calidad del aceite. Algunas cepas producen la toxina llamada anatoxina, sobre todo en semillas oleaginosas y cereales que no se han secado suficientemente. Son un grupo muy común de mohos capaces de desarrollarse en sustratos con muy bajo contenido de humedad y elevado contenido de azúcar (son generalmente los invasores primarios de productos de cultivos almacenados) (Kozakiewicz, 1989).

Género *Fusarium*

El género *Fusarium* fue detectado en semillas de las especies *H. bourgaeana*. Se observó invasión del 100% de la caja de cultivo. Es un hongo imperfecto de color oscuro, con microconidias abundantes y ovals mezcladas con una menor cantidad de macroconidias en forma de media luna (**Figura II.24A**). En semillas de *H. latispatha* se observa al reverso de la caja un color púrpura a rojizo, y presencia de clamidosporas grandes y redondeadas solitarias o en parejas (**Figura II.24B**). En *H. collinsiana* hubo crecimiento del hongo de color oscuro con micelio blanquecino, solo se observó micelio con pocas clamidosporas (**Figura II.24C**).

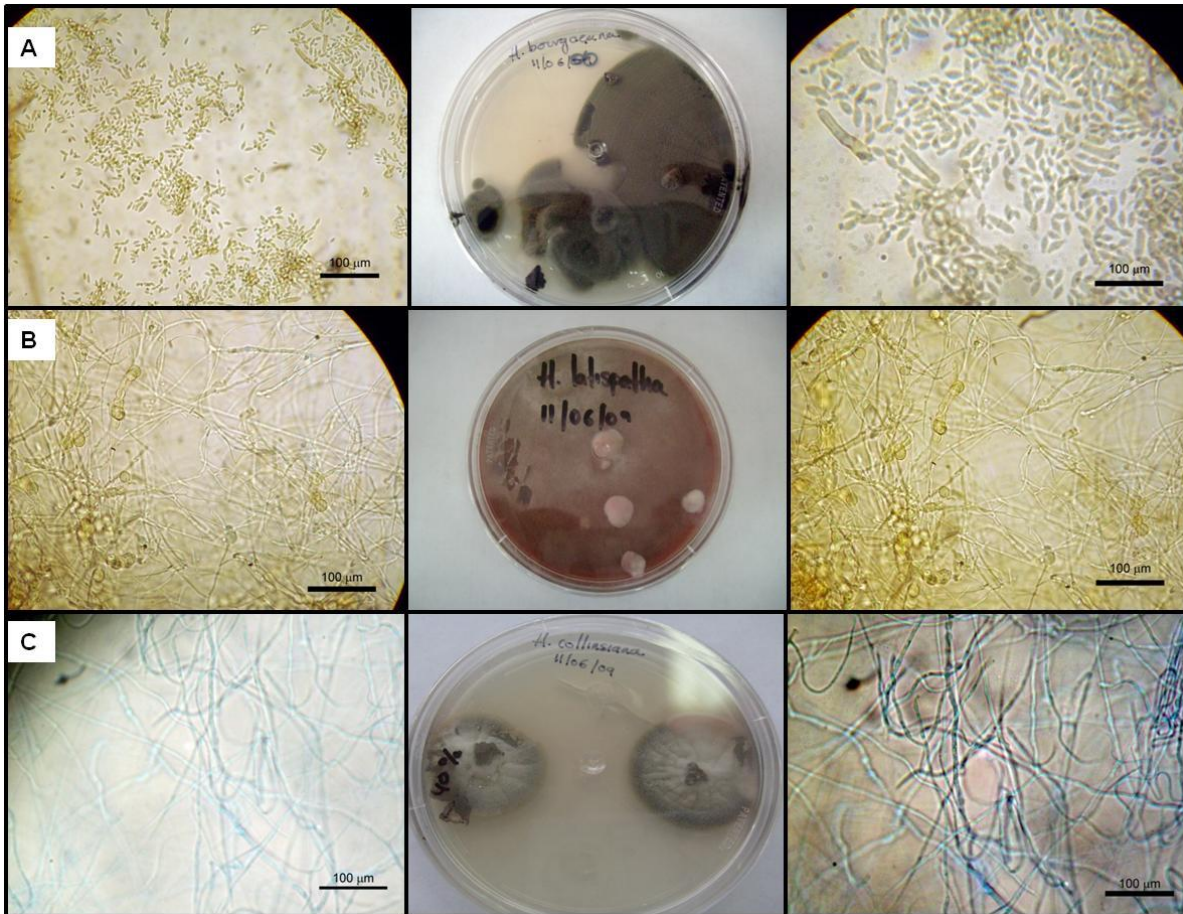


Figura II.24. Hongos fitopatógenos del género *Fusarium* en semillas de heliconias.

A: *Fusarium heterosporum* en semillas de *H. bourgaeana*; crecimiento en caja petri; microconidios en forma de media luna B: *F. oxysporum* en semillas de *H. latispatha*; presencia de clamidospora en micelio C: *F. oxysporum* en semillas de *H. collinsiana*; crecimiento en caja petri; micelio con pocas clamidosporas.

Del hongo *Fusarium oxysporum* se reconocen cuatro razas, siendo la raza 3, la que afecta especies del género *Heliconia* (Ploetz, 1994). Este hongo penetra a través de las raicillas y rizomas dañados, propagándose de los haces vasculares a otros sitios del rizoma y luego traslocándose a partes aéreas de la planta (Castaño y del Río, 1994).

Género *Mucor*

Hongos del género *Mucor* fueron detectados en semillas de las especies *H. collinsiana* (Figura II.25A) mediante una colonia en agar de color verde oscuro y

amarillo, es un hongo filamentoso con micelio no tabicado, cenocítico, presenta clamidosporas, bien definidas de coloración verde oscura en *H. psittacorum* (**Figura II.25B**).

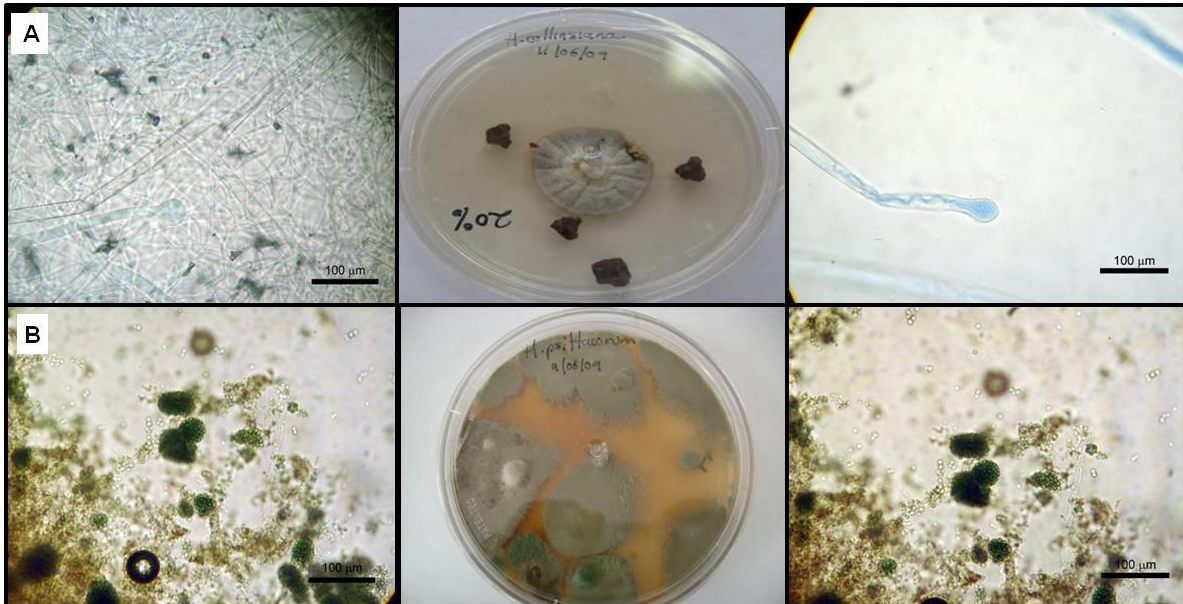


Figura II.25. Hongos fitopatógenos del género *Mucor* en semillas de heliconias. A: *Mucor* sp. en semillas de *H. collinsiana*: crecimiento en caja petri: micelio no tabicado con formación de clamidospora B. *Mucor* sp. en semillas de *H. psittacorum* con formación de clamidospora en coloración verde.

Los hongos del género *Mucor* son estrictamente terrestres. Sus esporas suelen flotar en la atmosfera y son organismos saprófitos o parásitos débiles de plantas o de sus productos, en los que ocasionan pudriciones blandas o mohos ([Agris, 2006](#)).

Géneros *Nigrospora* y *Pythium*

El hongos *Nigrospora* fue detectado solo en semillas de la especie *H. collinsiana*. Se observó mediante colonia en agar de color negro con presencia de hifas. El micelio contenía células alargadas segmentadas y con producción de conidios conidióforos y clamidosporas (**Figura II.26A**).

Por otra parte, el género *Pythium* generó crecimiento de una colonia en agar de color negro y presencia de micelio blanquecino y algodónoso y alargado, con presencia de hifas, sin esporangios (**Figura II.26B**).

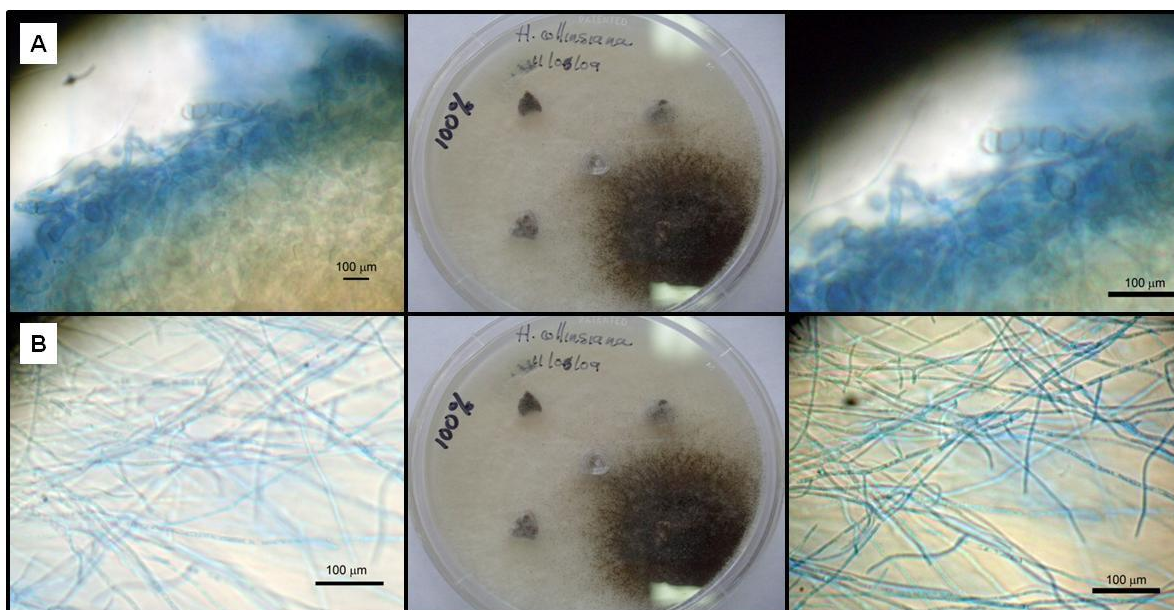


Figura II.26. Hongos fitopatógenos de los géneros *Nigrospora* y *Pythium* en semillas de heliconias. A: *Nigrospora* sp. en semillas de *H. collinsiana*: crecimiento en caja petri: clamidospora B: *Pythium* sp. en semillas de *H. collinsiana*: crecimiento en caja petri: crecimiento de micelio sin clamidosporas.

En la mayoría de los casos, la muerte de las plántulas antes de la emergencia está causada por tres géneros de hongos: *Pythium*, *Rhizoctonia* y *Thielaviopsis* (Nameth, 2003). El género *Pythium* ataca el ápice de las raíces emergentes de la semilla y si las condiciones son favorables para la enfermedad continúan, se traslada pudriendo la raíz y el tallo consecuentemente.

Género *Rhizoctonia*

El género *Rhizoctonia* fue detectado en semillas de las especies *H. collinsiana* mediante una colonia en agar de color negruzco verdoso, y micelio blanquecino algodónoso. Es un hongo imperfecto, con formación de micelio estéril que no

presenta coloración presenta células alargadas y produce ramificaciones que se encuentran en ángulo recto con respecto a la hifa principal se estrecha ligeramente a nivel de bifurcación y posee una septa cerca de ella; no presenta clamidospora (**Figura II.27**).



Figura II.27. Hongos fitopatógenos del género *Rhizoctonia* en semillas de heliconias. A. *Rhizoctonia solani* en semillas de *H. collinsiana*: crecimiento en caja petri: micelio.

Los hongos *Rhizoctonia* son organismos del suelo que produce enfermedades graves en muchos hospedantes, ya que afectan las raíces, los tallos, tubérculos, cormos y otros órganos de las plantas que se desarrollan en el suelo. Los síntomas más comunes de las enfermedades por *R. solani* en la mayoría de las plantas son el ahogamiento de las plántulas y la pudrición de la raíz, así como la pudrición y la cancrrosis del tallo de las plantas adultas y en proceso de crecimiento ([Agris, 2006](#); [Madriz et al., 1991](#)).

Género *Trichoderma*

Hongos del género *Trichoderma* fueron detectados en semillas de la especie *H. psittacorum* mediante formación de una colonia color verde oscuro, con invasión del 100% de la caja de cultivo. Se observó al reverso de la caja un color amarillo y café oscuro con presencia de micelio verduzco. Es un hongo imperfecto que toma un color verde brillante debido a los conglomerados de conidios que se forman en las puntas de las hifas; su estructura de esporulación son conidios; presentó clamidosporas (**Figura II.28**).

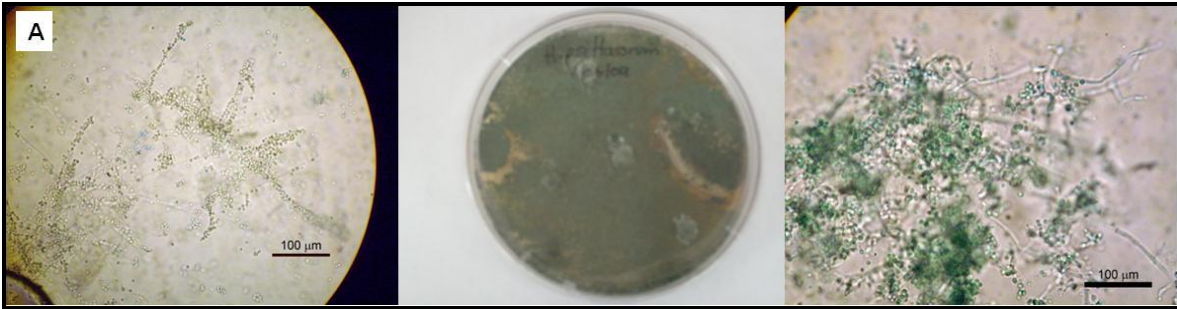


Figura II.28. Hongos del género *Trichoderma* en semillas de heliconias. A: *Trichoderma* sp. en semillas de *H. psittacorum*: crecimiento en caja petri.

Dentro del género *Trichoderma* se encuentran los agentes de biocontrol más promisorios, debido a sus propiedades antagónicas a los hongos patogénicos de plantas, principalmente porque pueden localizarse en la rizósfera y colonizar y proteger las raíces de plantas (Benhamou y Chet, 1993). También se ha observado su efectividad en enfermedades foliares de un amplio rango de cultivos, así como en pudrición postcosecha de fruta de hueso, entre las cuales se encuentra el control biológico mediante el uso de Tricobiol, fungicida biológico, formulado a base de *Trichoderma harzianum* (Hong et al., 1998), utilizándolo en la desinfección de suelo para el control de *Fusarium Rhizoctonia*, *Phytiun*, *Esclerotinia* (Lo et al., 1997).

Una de las ventajas de *Trichoderma* como controlador biológico, es la capacidad para atacar hongos patógenos en diferentes estados de desarrollo, como conidios, esclerocios e hifas (Nelson y Powelson, 1998).

El biocontrol es técnicamente factible para un amplio rango de enfermedades del follaje y frutos en varios sistemas de cultivo. El éxito del biocontrol se ha incrementado marcadamente en los últimos años, para patógenos que infectan flores, enfermedades del césped y patógenos en restos de cultivos (Suton y Peng 1993).

El uso de *Trichoderma* como controlador biológico constituyen una herramienta nueva, por lo que es necesario evaluar y profundizar en los aspectos de validación del producto, manejo, dosis, frecuencia de aplicación para el control de patógenos ya sea en suelo, planta y semilla.

Adicional a los análisis de semillas, también se llevaron a cabo estudios para detectar la presencia de hongos en otros tejidos de las plantas (datos no mostrados), los cuales revelaron que los géneros fúngicos encontrados en las semillas son en general los mismos que se encuentran en raíces, tallos y hojas. Estos hallazgos son de gran importancia dado que demuestra que los hongos presentes en tejidos no reproductivos pueden ser transferidos a tejidos reproductivos como las semillas.

Con estos análisis fue posible conocer a mayor detalle aspectos hasta ahora no estudiados en semillas de heliconias y establecer que por lo menos cinco géneros de hongos fitopatógenos están presentes en semillas de heliconias. Estos géneros incluyen *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Nigraspora*, *Pythium* y *Rhizoctonia*, además de un hongo de interés en control biológico de plagas, *Trichoderma*.

La especie de heliconia en donde se encontró un mayor número de géneros de hongos fitopatógenos fue *H. collinisiana* (i. e. *Nigrospora*, *Pythium*, *Rhizoctonia* y *Fusarium*). La especie *H. bourgaeana* presentó incidencia de *Aspergillus*, *Aspergillus* y *Fusarium*. En *H. latispatha* se identificaron los géneros *Aspergillus* y *Fusarium*. En *H. psittacorum*, los géneros de hongos encontrados fueron *Mucor* y *Trichoderma*. Por último, en la especie *H. rostrata* no se detectó presencia de ningún género de hongos durante el periodo de evaluación.

En futuras investigaciones deberá analizarse el rol de estos hongos en la desintegración de la testa de las semillas y sus posibles funciones como mejoradores de la germinación de estas especies, a la que se evalúe su transmisión a través de tejidos vasculares y los daños a la planta misma.

Las especies del género *Heliconia* son muy utilizadas actualmente como flores de corte y para el ornato de parques y jardines, y la mayoría de ellas son severamente afectadas por diversos hongos que ocasionan manchas de diferentes formas y tamaños en las hojas e inflorescencias. Sin embargo, en el país no existe un inventario actualizado de la flora micológica patogénica que afecta a las musáceas ornamentales y, en particular, al género *Heliconia*, a pesar de ser un cultivo tropical americano. Por estas razones, uno de los propósitos de esta investigación fue el identificar los hongos patógenos que afectan algunas especies ornamentales del género *Heliconia*, para de esta manera contribuir al conocimiento de las enfermedades fúngicas presentes en este cultivo e incrementar la información fitopatológica sobre el tema.

Las investigaciones realizadas con anterioridad en México respecto a estas especies se han enfocado en temas diversos como inventarios, taxonomía, ecología, distribución y clasificación de heliconias que habitan en el país, careciendo de información e investigación precisa sobre los microorganismos patogénicos que afectan las especies de este género. Estas limitaciones ocasionan pérdidas económicas, incremento en los costos de producción y cierre de mercados internacionales.

II.8. CONCLUSIONES

En general, las pruebas de permeabilidad llevadas a cabo demostraron que la conformación de la testa impide la entrada de agua en semillas de *H. psittacorum*, lo cual explica en parte los bajos porcentajes de germinación encontrados en la mayoría de estas especies.

Los estudios anatómicos revelaron que después de un año de almacenamiento las semillas analizadas presentan consumo de reservas del endospermo.

El ácido abscísico se encontró en mayor concentración en las semillas de *H. collinsiana*, lo cual demuestra que esta fitohormona no está directamente

relacionada con los problemas de germinación aquí encontrados, pues fue precisamente la especie *H. collinsiana* la que tuvo uno de los mayores porcentajes de germinación.

En general, la especie que mostró los valores más bajos tanto de macronutrientes como de micronutrientes fue *H. psittacorum*, en tanto que los valores más altos fueron observados en *H. rostrata*. Sin embargo, es de destacar que tanto para N como para K, las semillas de *H. psittacorum* presentaron valores altos, los que se puede relacionar con el mayor porcentaje de germinación.

El porcentaje de germinación más elevado, cercano al 32%, se observó en semillas de *H. psittacorum*, seguida de *H. collinsiana* con 30%.

Fue posible detectar cinco géneros de hongos fitopatógenos (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Nigrospora*, *Pythium* y *Rhizoctonia*), los cuales deben ser considerados para establecer medidas fitosanitarias que permitan movilidad de semillas.

II.9. LITERATURA CITADA

- Agrios G (1997) Micotoxins and micotoxicoses. *In: Plant pathology*. Fourth edition. Academic Press. 365 p.
- Alcántar G G, M Sandoval V (1999) Manual de Análisis Químico de Tejido Vegetal. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A.C. Publicación especial No. 10. Chapingo México. 156 p.
- Ali-Rachedi S, D Bouinot, M H Wagner, M Bonnet, B Sotta, P Grappin, and M Jullien (2004) Changes in endogenous abscisic acid levels during dormancy release and maintenance of mature seeds: studies with the Cape Verde Islands ecotype, the dormant model of *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 219: 479-488.
- Auerbach M J, D R Strong (1981) Nutritional ecology of heliconia herbivores: experiments with plant fertilization and alternative hosts. *Ecological Monographs* 51: 63-84.
- Barrero J M, A A Millar, J Griffiths, T Czechowski, W R Scheible, M Udvardi, J B Reid, J J Ross, J V Jacobsen, F Gubler (2009) Gene expression profiling identifies two regulatory genes controlling dormancy and ABA sensitivity in *Arabidopsis* seeds. *Plant Journal* 61: 611-622.
- Barreiros H S (1972) *Heliconia nova brasiliana et varietas* (Heliconiaceae (End.) Nakai) - III. *Revista Brasileira de Biologia* 32: 205-208.
- Benhamou N, Chet I (1993) Hyphal interactions between *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*: Ultrastructure and Gold Cytochemistry of the mycoparasitic process. *Phytopathology* 83(10): 1062-1071.
- Berry F, W Kress (1991) *Heliconia: an identification guide*. Smithsonian Institution. Washington. 337 p.
- Bewley J D (1997) Seed germination and plant dormancy. *Plant Cell* 9: 1055-1066.
- Broschat T K (1989) Potassium deficiency in South Florida ornamentals. *Proceedings of the Florida State Horticulture Society* 102: 106-108.

- Broschat T K, H Donselman (1983a) Production and postharvest culture of *Heliconia psittacorum* flowers in South Florida. . Proceedings of the Florida State Horticulture Society 96: 272-273.
- Broschat T K, H Donselman (1983b) Heliconia: a promising new flower crop. HortScience 18: 1-2.
- Bruna E M, M B N Ribeiro (2005) Regeneration and population structure of *Heliconia acuminata* in Amazonian secondary forests with contrasting land-use histories. Journal of Tropical Ecology 21: 127-131.
- Burchi G, A Mercuri, L De Benedetti, A Giovannini (1996) Transformation methods applied to ornamental plants. Plant Tissue Culture and Biotechnology. 2: 94-104.
- Castañeda C O (2002) Germinación *in vitro* de heliconias (*Collinsiana collinsiana* Griggs). Tesis licenciatura. Universidad Veracruzana. Córdoba, Veracruz, México. 51 p.
- Castaño Z J, Del Río M L (1994) Sigatokas del banano. En: Guía para el Diagnóstico y Control de Enfermedades en Cultivos de Importancia Económica. 3a Edición. Zamorano Academic Press, Honduras. 217-218.
- Castillo R, O Guenni (2001) Latencia en semillas de *Stylosanthes hamata* (Leguminosae) y su relación con la morfología de la cubierta seminal. Revista de Biología Tropical 49: 287-299.
- Castro R A C, V Loges, A S Costa, M F A Castro, F A S Aragao, L G Villadino (2007) Hastes florais de heliconia sob deficiencia de macronutrientes. Pesquisa Agropecuaria Brasileira 42: 1299-1306 p.
- Chapman H D, P F Pratt (1973) Métodos de análisis para suelos, plantas y aguas. Trillas, México. 195 p.
- Clemens J, R H Morton (1999) Optimizing mineral nutrition for flowers production in Heliconia 'Golden Torch' using response surface methodology. Journal of the American Society of Horticultural Science 124: 713-718.
- Criley R A (1988) Propagation of tropical cut flowers: Strelitzia, Alpinia and Heliconia. Acta Horticulturae. 226: 509-517.

- Criley R A, T K Broschat (1992) Heliconia: botany and horticulture of a new floral crop. *Horticulture Reviews* 14: 1-55.
- Danilova M T, Nemirovich-Dannchenko E N, Komar G A, Lodkina M M (1995) The seed structure of monocotyledons. *In: Rudall P J, Cribb P J, Cutler D F, Humphries C J (eds.). Monocotyledons: systematics and evolution. Royal Botanic Gardens, Kew. pp. 461-472.*
- Finkelstein R R (2007) The Role of Hormones during Seed Development and Germination. *In: P J Davies (ed.) Plant Hormones. Biosynthesis, signal transduction, action. Springer. Heidelberg, Germany. 513-573.*
- García F, G M Ramos, M J Galindo (1999) Estructura de la semilla de aguacate y cuantificación de la grasa extraída por diferentes técnicas. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 5: 123-128.
- Graven P, Koster C G, Boon J J, Bouman F (1996) Structure and macromolecular composition of the seed coat of the Musaceae. *Annals of Botany* 77: 105-122.
- Greggains V, Finch-Savage W E, Quick W P, Atherton N M (2000) Putative desiccation tolerance mechanisms in orthodox and recalcitrant seeds of the genus *Aser*. *Seed Science and Research* 10: 317-327.
- Gutiérrez-Báez C (2000) Flora de Veracruz. Fascículo 118. Familia Heliconiaceae. Instituto de Ecología A. C. y Universidad de California-Riverside. Xalapa, Estado. México. 32 p.
- Hong C, Michailides T, Holtz B (1998) Effects of wounding, inoculum density, and biological control agents on postharvest brown rot of stone fruits. *Plant Disease* 82: 1210-1216.
- Kainer K A, Duryea M L, de Malavasi M M, da Silva E R, Harrison J (1999) Moist storage of Brazil nut seeds for improved germination and nursery management. *Forest Ecology and Management* 116: 207-217.
- Kozakiewicz Z (1989) *Aspergillus* species on stored products. *Mycological Papers. Wallingford, UK: CABI Publishing. 161: 1-188.*
- Kress W J, J Betancur J, B Echeverry (2004) Heliconias. *Llamaradas de la selva colombiana. Cristina Uribe. Bogotá, Colombia. 200 p.*

- Kress W J (1997) A synopsis of the genus *Heliconia* (Heliconiaceae) in Venezuela with one new variety. *BioLlania*. 6: 407-430.
- Kress W J Roesel C S (1987) A bibliography of biological literature on vascular epiphytes. *Selbyana* 10: 1-23.
- Lo C, Nelson E, Harman G (1997) Improved biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum* 1295-22 for foliar phases of turf diseases by use of spray applications. *Plant Disease* 81:1132-1138.
- Lovegrove A, Hooley R (2000) Gibberellin and abscisic acid signalling in aleurone. *Trends in Plant Science* 5: 102-110.
- Madriz R, G Smits, R Noguera (1991) Principales hongos patógenos que afectan algunas especies del género *Heliconia*. *Agronomía Tropical* 41: 265-274.
- Madueño-Molina A, D García-Parades, J Martínez-Hernández, C Candelario Rubio-Torres, A Navarrete-Valencia, J Bojórquez-Serrano (2006) Germinación de semilla de frijolillo, *Rhynchosia minima* (L.) DC., luego de someterla a tratamientos pregerminativos. *Bioagro* 18: 101-105.
- Mello-Filho L E, Santos E. (1987) *Heliconiae novae brasiliensis* VIII. *Bradea* 4: 95-104.
- Merlot S, Giraudat J (1997) Genetic analysis of abscisic acid signal transduction. *Plant Physiology* 114: 751–757.
- Montgomery R (1986) Propagation of heliconia from seeds. *Bulletin of the Heliconia Society International* 1: 6-7.
- Murashige T, F Skoog (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- Nameth S (2003) Enfermedades de plántulas de temporada ("Bedding Plants"). *OFA Bulletin*, January/February 2003. Department of Plant Pathology. The Ohio State University. Columbus Ohio USA. 10: 4-15.
- Nelson M, M Powelson (1988) Biological control of grey mold of snap beans by *Trichoderma hamatum*. *Plant Disease* 72: 727-729.
- Nowak J, R M Rudnicki (1990) Postharvest handling and storage of cut flowers, florist greens and potted plants. Portland Oregon, USA. Timber Press. 210 p.

- Olivella C, M Vendrell M, R Savé (2001) Determinación de ácido abscísico, ácido indolacético, zeatina y ribósido de zeatina en hojas desarrolladas de *Gerbera jamesonii* cv Bolus y su variación con la edad. Investigaciones Agrícolas en Prpducción y Protección Vegetal 36: 333-342.
- Ploetz R (1994) Fusarium wilt (panama disease). En: Compendium of Tropical Diseases APS. 10-11.
- Ritchie S, McCubbin A, Ambrose G, Kao T and Gilroy S (1999) The sensitivity of barley aleurone tissue to gibberellin is heterogeneous and may be spatially determined. Plant Physiology 120: 361-370.
- Roberts E H (1973) Predicting the storage life of seeds. Seeds Science and Technology 1: 499-514.
- SAS Institute (2000) SAS/STAT User's guide. Ver. 6. SAS Institute, Inc. Caray, North Carolina. USA. 1686 p.
- Solís T J R (2007) Caracterización y germinación *in vitro* de semillas de heliconias. Tesis de licenciatura. Universidad Veracruzana. Córdoba, Veracruz, México. 67 p.
- Stiles F G (1985) The natural history of *Heliconia* in Costa Rica. Bulletin of the Heliconia Society International 1: 7.
- Suton J, G Peng (1993) Manipulation and vectoring of biocontrol organisms to manage foliage and fruit disease in cropping systems. Annual Review of Phytopathology 31:473-493.
- Tweddle J C, Dickie J B, Baskin C C, Baskin J M (2003) Ecological aspects of seed desiccation sensitivity. Journal of Ecology 91: 294-304.
- Vidal Morales B (2007) Germinación *in vitro* y nutrición de heliconias. Tesis de Maestra en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México. 133 p.
- Werker E, Marbach I, Mayer M A (1979) Relation between the anatomy of the testa, water permeability and the presence of phenolics in the genus *Pisum*. Annals of Botany 43: 756-771.

CAPÍTULO III

III. ESTABLECIMIENTO HIDROPÓNICO Y NUTRICIÓN DE PLANTAS DE *Heliconia psittacorum*

III.1. INTRODUCCIÓN

Para producir plantas de heliconias de buena calidad genética y fitosanitaria, un aspecto determinante es la nutrición. El manejo nutrimental de las plantas es mejor controlado si se establecen cultivos sin suelo, y en este aspecto, de acuerdo con [Dimitrios \(2003\)](#) existen dos vertientes:

- Sistemas en medio exclusivamente líquido, en los que se sumerge la raíz de la planta directamente en la solución nutritiva, sin la existencia de un sustrato sólido; las plantas son colocadas sobre placas de algún material que sea capaz de sostener su peso sobre la superficie acuosa.
- Sistemas sobre sustrato sólido: utiliza material sólido, inerte y poroso, donde la planta se ancla directamente y recibe la solución nutritiva a través de algún sistema de suministro (goteo, microaspersión o subirrigación).

En los cultivos sin suelo se puede establecer cualquier relación de iones y cualquier concentración total de sales, siempre que no supere los límites de precipitación para ciertas combinaciones de iones. Así, la selección de la concentración de una solución nutritiva debe ser tal que el agua y los iones totales sean absorbidos por la planta en la misma proporción en la cual están presentes en la solución ([Steiner, 1968](#)).

[Hoagland y Arnon \(1950\)](#) formularon dos soluciones nutritivas, las cuales han sido ampliamente utilizadas en la nutrición de las plantas a nivel mundial.

[Coic \(1973\)](#) y [Steiner \(1984\)](#), indicaron que la composición y concentración de una solución nutritiva depende de la clase de cultivo, de la fase de desarrollo, del medio ambiente y del tipo de sistema de hidroponía utilizado (frecuencia de renovación de soluciones). Añaden que las plantas poseen una cierta elasticidad con relación al ambiente nutritivo, es decir, que la planta absorbe los iones en su

propia relación mutua, dentro de amplios límites, independientemente de la relación mutua entre los iones de la solución nutritiva.

[Steiner \(1968; 1984\)](#) elaboró una solución nutritiva universal, que se distingue por sus relaciones mutuas entre aniones y cationes, expresadas en por ciento del total de milimoles por litro (mM L^{-1}). El uso de su solución nutritiva universal demanda únicamente que se determine la presión osmótica (PO) requerida para un cultivo en particular en una cierta época del año. Las relaciones mutuas entre los iones en la Solución Nutritiva Universal de Steiner en porcentaje del total de milimoles por litro es de 60:5:35 para NO_3^- : H_2PO_4^- : SO_4^{2-} y 35:45:20 para K^+ : Ca^{2+} : Mg^{2+} .

La respuesta de las plantas en crecimiento y desarrollo a la solución nutritiva del cultivo hidropónico depende de varios factores y la PO es el más importante de ellos, dado que expresa la concentración total de iones ([Steiner, 1966; Segal, 1989](#)). La PO comúnmente responde a un intervalo que varía de 0.5 a 2 atmósferas. Una atmósfera produce crecimiento vegetal más intenso, aunque en invierno la concentración óptima tiende a ser mayor (1.5 atm) y en verano o en el trópico es menor (0.5 atm). La PO indica también el contenido salino de una solución nutritiva, el cual puede ser calculado a partir de la conductividad eléctrica (CE), expresada en mmhos cm^{-1} o dS m^{-1} , multiplicado por 0.36 y expresándose en atm a 25 °C. [Steiner \(1984\)](#) señaló que la PO que se calcula multiplicando el número total de mM L^{-1} por el factor 0.024. Un aumento de la PO debido al incremento en el contenido de nutrientes o de otros iones en la solución nutritiva provoca que la planta realice un esfuerzo mayor para absorber agua y algunos nutrientes ([Asher y Edwards, 1983; Marschner, 1995](#)) y por consiguiente un desgaste de energía metabólica. Según [Steiner \(1961, 1966, 1968, 1984\)](#), diferencias de PO de la solución nutritiva en el orden de 0.2 atm provocan discrepancias considerables en el rendimiento de los cultivos.

Sobre nutrición de heliconias, [Rodrigues et al. \(2005\)](#), realizaron estudios en la aclimatación de plantas obtenidas *in vitro* de *Heliconia bihai* utilizando sustratos como arena lavada vermiculita Eucatex y Eucatex PlantMax[®], aplicando riego por

nebulización con 80% de humedad relativa. De este estudio encontraron que el uso de vermiculita presentó bajo rendimiento en comparación con arena lavada y PlantMax® en todos los niveles de sombreado. Al no presentar nuevas raíces, las hojas fueron gravemente afectadas, mostrando del marchitamiento rápido en el limbo de la hoja con posterior necrosis. La arena lavada y PlantMax® generó similares rendimientos, con tasas de supervivencia (72.50 y 71.66%, respectivamente) cuando el sombreado fue del 50%. El incremento en sombreado al 80% produjo rendimientos de 95 y 93.33% con arena lavada y PlantMax®, respectivamente.

La especie *H. psittacorum* responde positivamente a altos aportes de N, por lo que se recomiendan aplicaciones de 650 g de N m⁻² año⁻¹ de un equilibrio de 3N-1P-2K mediante enmiendas de lenta liberación en el momento de la plantación y posteriormente una vez al año (Broschat y Donselman, 1983).

Alves *et al.* (2004) utilizaron dos sustratos (cascarilla de arroz carbonizado y cáscara de coco seco y verde) y dos fertilizantes en la aclimatación de plántulas de *H. psittacorum*. Los resultados obtenidos en cuanto a altura, diámetro de tallo y de área foliar mostraron que las cáscaras de arroz carbonizado dieron lugar a los valores más altos en comparación con los polvos de coco secos y verdes.

En una especie del mismo orden de las heliconias, amaryllis (*Hippeastrum vittatum* Herb.) El Naggat y El-Nasharty (2009) estudiaron el efecto de diferentes medios de cultivo (1: arcilla; 2: composta de hojarasca; y 3: composta de hojarasca + arena -1:1, v/v-), y rangos de fertilización de sales de NPK (19: 19: 19) a 0.0, 2.5, 5 g por planta, y sus efectos combinados sobre el crecimiento, calidad de flores, producción de bulbos y constituyentes químicos (clorofilas totales y contenidos de N, P y K) en hojas de esta especie en etapa de plántula. Los medios de cultivo tuvieron efectos significativos en todas las variables medidas, en tanto que los rangos de fertilización solo afectaron variables de crecimiento, floración y producción de bulbos. El nivel más alto del fertilizante completo (5 g por planta) produjo el mayor crecimiento, peso de la materia seca y fresca del bulbo, y

constituyentes químicos de las hojas. En combinación composta, el nivel más elevado del fertilizante completo NPK ocasionó el máximo crecimiento de plantas, producción de flores y de bulbos. Los autores recomiendan el uso de composta en combinación con fertilizantes NPK durante la etapa de crecimiento del cultivo.

Recientemente, [Baset-Mia et al. \(2010\)](#) llevaron a cabo un experimento en hidroponía donde probaron el efecto de rizobacterias promotoras del crecimiento en plantas (RPCP; cepas Sp7 y UPMB10) en banano (*Musa* spp. Cv. 'Berangan'), en un medio de cultivo libre de nitrógeno, y observaron un incremento considerable en altura (del 33 al 44%), volumen de plantas (del 76 al 168%), producción de biomasa (del 137 al 141%) y contenido de N en tejido (hasta 144%) en comparación con el testigo.

Dado que poco se ha estudiado sobre el cultivo sin suelo de heliconias, en esta investigación se probaron dos concentraciones de la solución nutritiva de Steiner (50 y 100%) en el establecimiento hidropónico de plantas jóvenes (de dos meses de edad, con 20 cm de altura en promedio) de *Heliconia psittacorum* en invernadero.

III.2. OBJETIVOS

Valorar el efecto de dos potenciales osmóticos de la solución nutritiva de Steiner sobre el crecimiento y concentración nutrimental en *Heliconia psittacorum*.

III.3. HIPÓTESIS

La solución nutritiva de Steiner con un valor de potencial osmótico de -0.072 MPa (100% de concentración) afecta positivamente el crecimiento y la concentración nutrimental en *H. psittacorum*.

III.4. MATERIALES Y MÉTODO

III.4.1. Ubicación y condiciones del sitio experimental

El estudio se llevó a cabo en el Campus Montecillo del Colegio de Postgraduados, en Montecillo, Estado de México, en los invernaderos y el Laboratorio Salvador Alcalde Blanco del Área de Nutrición Vegetal del Postgrado en Edafología.

III.4.2. Obtención del material biológico

Se utilizaron plantas jóvenes (de dos meses de edad, con una altura promedio de 20 cm) de la especie *Heliconia psittacorum* obtenidas de los campos experimentales del Campus Córdoba del Colegio de Postgraduados.

III.4.3. Establecimiento de plantas en sustrato

El cultivo hidropónico de las heliconias se estableció en un invernadero tipo cenital de estructura metálica y plástico blanco lechoso calibre 720, dentro de las instalaciones del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Se colectaron plantas de *H. psittacorum* de aproximadamente 40 cm de altura, con dos hojas cada una. Las plantas fueron colocadas en cubetas de plástico de 3 L de capacidad. Se instalaron tres plantas por cubeta y 18 macetas por tratamiento. En la parte superior de la maceta se hizo un corte de 2 cm de diámetro, donde se colocaron una planta por orificio. Las plantas fueron soportadas con hule espuma colocado a nivel del cuello de la raíz, para evitar daños al tallo. La fase de evaluación tuvo una duración de 30 días.

III.4.4. Soluciones nutritivas

Se preparó la solución nutritiva universal de Steiner, cuya concentración se describe en el **Cuadro III.1**.

Cuadro III.1. Concentración de la solución nutritiva universal de Steiner (Steiner, 1984).

Ión	NO ₃ ⁻	H ₂ PO ₄ ⁻	SO ₄ ⁻	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺
Concentración (mol _c m ⁻³)	12	1	7	7	9	4

En esta investigación se probaron dos concentraciones de la solución nutritiva de Steiner: al 50 y al 100%.

A esta solución nutritiva se adicionaron micronutrientes como se describe a continuación: Mn, Cu y Zn fueron suministrados en forma de sulfatos; B como H_3BO_3 y el Fe se agregó como quelato (Fe-EDTA) de acuerdo al método descrito por [Steiner y van Winden \(1970\)](#).

El pH fue ajustado diariamente a 5.5 empleando H_2SO_4 1 N, y las soluciones completas fueron renovadas cada 15 días.

III.4.5. Variables evaluadas

Las variables que a continuación se describen se determinaron a los 10, 20 y 30 d después del inicio de tratamientos. En el caso particular de variables de crecimiento, éstas fueron también medidas al inicio del experimento (día cero).

Altura de planta

Se determinó empleando una cinta métrica, midiendo a partir de la tapa, hasta la altura máxima alcanzada por el tallo.

Volumen de raíz

Se utilizó una probeta graduada de 1000 mL, a la cual se le colocó un volumen inicial de 500 mL, posteriormente se sumergió en la probeta el sistema radical de cada planta y se midió el volumen alcanzado; por diferencia se estimó el volumen de raíces.

Número de hojas

Se contabilizó el número de hojas en cada planta.

Determinación de concentración nutrimental en hoja

Las concentraciones nutrimentales en tejido vegetal se realizaron en tres plantas por tratamiento cada semana separando sus componentes en tallo, raíz y parte aérea. Se determinó la concentración de P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn y B mediante la digestión húmeda del material seco con una mezcla de ácido perclórico y nítrico en proporción 1:2, de acuerdo a la metodología descrita por [Alcántar y Sandoval \(1999\)](#). Los extractos obtenidos fueron analizados por un equipo de espectroscopia de emisión atómica de inducción por plasma (ICP-AES) marca VARIANTM modelo Liberty II. Para la determinación de N se utilizó la técnica de micro-Kjeldahl.

III.4.6. Análisis estadístico

Los resultados se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza y comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$), empleando el paquete estadístico SAS ([SAS, 2000](#)), de acuerdo al arreglo completamente al azar empleado en el experimento.

III.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Es pertinente indicar que inicialmente se establecieron experimentos utilizando vitroplantas de heliconia; éstos no prosperaron debido a que se observó toxicidad en las plantas, clorosis y muerte de tejido foliar, aún cuando las plantas contaban con un sistema radical bien desarrollado, motivo por el cual se utilizaron plantas crecidas en campo. Por los tanto, los resultados que se muestran en este capítulo están referidos a plantas que habían estado en suelo y posteriormente establecidas en cultivo hidropónico.

III.5.1. Altura de planta

Se observaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre tratamientos en las evaluaciones realizadas a los 10, 20 y 30 días después del inicio de tratamientos (ddt). En la primera evaluación (10 ddt) las plantas más altas se registraron en la solución nutritiva de Steiner al 100%. En las fases posteriores (20 y 30 ddt) cambió

la tendencia, presentándose la mayor altura de planta en la solución de Steiner al 50% (Figura III.1).

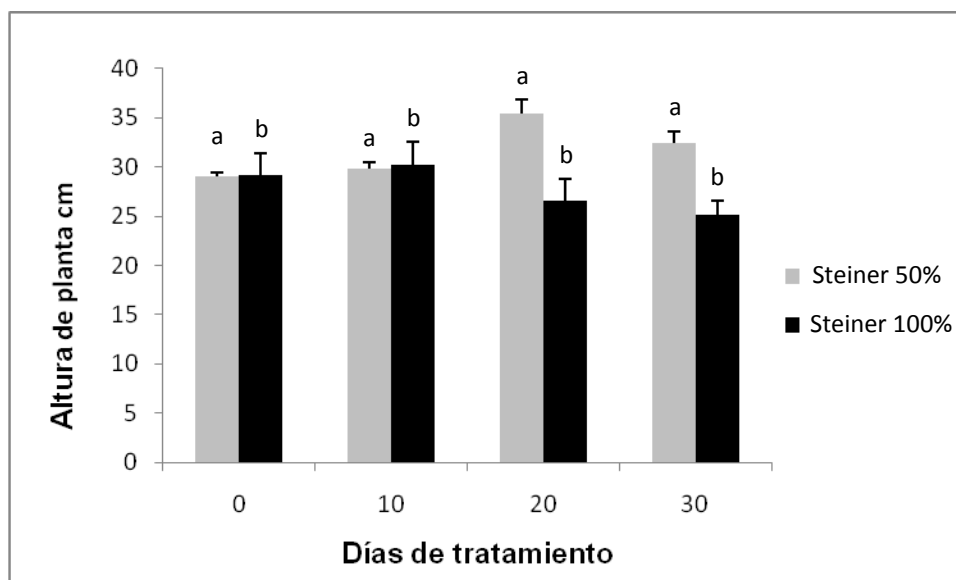


Figura III.1. Altura de plantas de *Heliconia psittacorum* crecidas en solución de Steiner al 50 y 100%. Barras sobre las columnas indican desviaciones estándares. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (Tukey, 0.05).

Magdaleno *et al.* (2006), evaluaron el efecto de soluciones nutritivas en plantas de tomate de cáscara, utilizando la solución de Steiner en concentraciones de 25, 50, 75 y 100%. Después de 29 días de tratamiento, encontraron que la solución al 50% ocasionaba mayores incrementos en las variables altura de planta, biomasa seca y fresca, diámetro de tallos en comparación con la solución completa al 100%. La baja altura en las plantas se atribuye a que las altas concentraciones nutritivas de la solución tienden al incrementar la conductividad eléctrica, lo cual reduce la absorción de agua y nutrientes (Lara, 2000) y con ello se reduce el crecimiento general de las plantas.

III.5.2. Volumen de raíz

El volumen de raíz fue mayor ($P \leq 0.05$) en las plantas que estuvieron sometidas al tratamiento con la solución al 50% en todos los muestreos realizados. Se

observó la mayor diferencia entre tratamientos a los 30 d, generando diferencias significativas ($P \leq 0.05$) (**Figura III.2**).

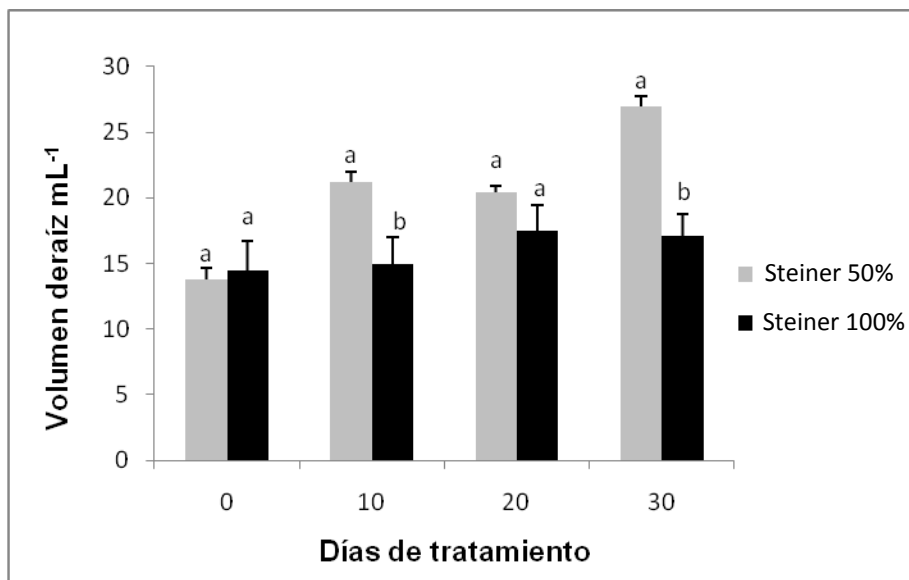


Figura III.2. Volumen de raíz de *Heliconia psittacorum* crecidas en solución de Steiner al 50 y 100%. Barras sobre las columnas indican desviaciones estándares. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (Tukey, 0.05).

Vidal-Morales (2007) reportó que una concentración menor al 85% de N en forma de NH_4^+ favorece la elongación de raíces en plantas de *Heliconia psittacorum* establecidas en hidroponía.

Urrieta (2006) encontró resultados similares en plantas de Chile, donde la mayor longitud del sistema radical es mayor con la utilización de una solución nutritiva menor a la del 100%, en tanto que Magdaleno *et al.* (2006) reportaron que cuando utilizaron la solución de Steiner al 100% en plantas de tomate de cáscara se generó mayor crecimiento radicular.

III.5.3. Número de hojas

A los 20 ddt se presentaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre tratamientos en la variable número de hojas por planta. Se observó un mayor número de hojas en plantas establecidas en la solución de Steiner al 50% (**Figura III.3**).

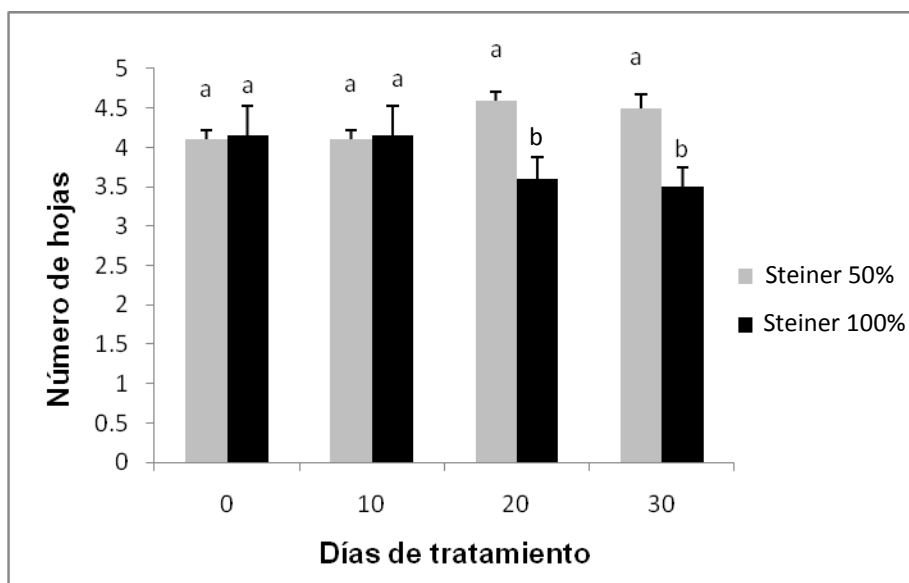


Figura III.3. Número de hojas de *Heliconia psittacorum* crecidas en solución de Steiner al 50 y 100%. Barras sobre las columnas indican desviaciones estándares. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (Tukey, 0.05).

Para el caso de la solución nutritiva de Steiner al 100% se observó una disminución del número de hojas a partir del día 20, posiblemente al presentarse una reducción de la lámina foliar como consecuencia del estrés ocasionado por el mayor contenido de sales en solución.

III.5.4. Concentración nutrimental en hoja

Al comparar los resultados obtenidos en *H. psittacorum* respecto a los observados por [Álvarez et al. \(2000\)](#) en plátano, se puede observar que en general la heliconia tiende a presentar menores concentraciones de todos los macronutrientes, con excepción del P, en el tratamiento con uso de la solución Steiner al 100% (**Cuadro III.2**).

A diferencia de los Macronutrientes, esta especie concentró mayores niveles de micronutrientes en hoja en comparación con *Musa*. En los casos de Cu, Fe y Zn

los valores fueron muy superiores a los reportados en el género *Musa*, en tanto que Mn fue muy similar.

En especial, *H. psittacorum* tendió a concentrar más sodio en hojas, a medida que se aumentó la concentración de nutrimentos en la solución nutritiva. La salinidad es un estrés abiótico complejo que simultáneamente presenta componentes osmóticos e iónicos (Ramírez *et al.*, 2004). Por ello, una concentración elevada de sales en el medio radical afecta negativamente el desarrollo de la planta, debido fundamentalmente a los efectos hiperosmóticos e hiperiónicos del estrés (Dell'Amico y Parra, 2005), que inevitablemente debilita la intensidad de todas las reacciones de síntesis y que se manifiestan en la reducción del crecimiento, la formación de biomasa y el rendimiento (González *et al.*, 2002).

Cuadro III.2. Comparación de las concentraciones nutrimentales en vástago de plantas de *H. psittacorum* establecidas en hidroponía con dos concentraciones de la solución Steiner, a los 30 ddt y en plátano.

Tratamiento	Macronutrimentos en vástagos de <i>H. psittacorum</i>					
	N	P	K	Ca	Mg	
	g kg ⁻¹ MS					
Steiner 50%	16.88 a	3.38 a	15.92 b	6.05 a	3.78 a	
Steiner 100%	15.12 a	4.10 a	9.09 a	5.12 a	3.85 a	
Tratamiento	Macronutrimentos en hojas de plátano (Álvarez <i>et al.</i> , 2000)					
	N	P	K	Ca	Mg	
Normales	33.78	2.3	30.08	14.78	4.73	
Tratamiento	Micronutrimentos en vástagos de <i>H. psittacorum</i>					
	Cu	Fe	Mn	Zn	Na	B
	mg kg ⁻¹ MS					
Steiner 50%	23 a	289 a	272 a	91 a	1.07 a	88 a
Steiner 100%	27 a	288 a	280 a	82 a	1.34 a	83 a
Tratamiento	Micronutrimentos en hojas de plátano (Álvarez <i>et al.</i> , 2000)					
	Cu	Fe	Mn	Zn	Na	B
Normales	11.8	183.5	229.3	24.3	-	-

Las diferentes especies y variedades presentan una gran variabilidad en cuanto a tolerancia a la salinidad (Zhu, 2001), lo cual indica que dentro de las heliconias, la especie *H. psittacorum* puede ser una especie tolerante a este tipo de estrés, dado el alto nivel de acumulación de Na en tejidos, y que fue capaz de sobrevivir.

Estos resultados coinciden con los reportados por Vidal-Morales (2007), quien no encontró diferencias en la concentración nutrimental en vástagos de esta especie al variar las relaciones de nitrato y de amonio en la solución nutritiva de Steiner.

En caso de plantas sensibles a la salinidad, la acumulación de sales en hojas y su posterior abscisión constituyen un mecanismo de escape a la salinidad, que evita el daño en otros tejidos. En plantas tolerantes que cuentan con mecanismos fisiológicos de escape, el disponer de antiporters Na^+/H^+ en vacuola puede constituir otra ruta de escape, adicional a la excreción de sodio por las hojas (Zhang *et al.*, 2001).

III.6. CONCLUSIONES

Durante la fase *in vitro* se obtuvo un lote considerable de plantas para ser sometidas a cultivo hidropónico, las cuales contaban con vigor, hojas y tallos bien desarrollados al superar la fase de aclimatación, además de contar con un crecimiento abundante de raíces. Sin embargo, al someter estas plantas a la solución nutritiva de Steiner al 50 y 100%, se observaron daños y quemaduras en las hojas, así como enrollamiento y necrosis con el paso del tiempo, razón por la que no fue posible establecerlas en este sistema y se optó por coleccionar plantas de campo para llevar a cabo el ensayo hidropónico.

En cuanto a la nutrición de plantas de *Heliconia psittacorum* aquellas crecidas en la solución Steiner al 50% mostraron un mayor crecimiento, como lo reflejan las variables altura de plantas, volumen de raíz y número de hojas, en comparación con la solución al 100%, lo que muestra que este cultivo no demanda altas cantidades de nutrimentos.

En cuanto a la concentración de nutrimentos en hoja, se observó que con excepción de P, los demás Macronutrimentos fueron menores que en el género *Musa*, y no hubo efectos por los tratamientos. A diferencia de los macronutrimentos, si hubo mayores concentraciones de micronutrimentos en esta especie de heliconia en comparación con *Musa*.

Para obtener mejor respuesta a nivel de crecimiento en plantas establecidas en medio hidropónico es necesario que éstas cuenten con un buen crecimiento radical antes de ser sometidas a este sistema.

Si se desea obtener plantas de buena calidad es necesario hacer una evaluación más exhaustiva en las distintas etapas fenológicas del cultivo y someter las plantas a distintas concentraciones de la solución nutritiva de Steiner, así como vigilar si ocurre toxicidad por exceso de acumulación de sales en los diferentes tejidos.

III.7. LITERATURA CITADA

- Alcántar G G, M Sandoval V (1999) Manual de Análisis Químico de Tejido Vegetal. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A.C. Publicación especial No. 10. Chapingo México. 156 p.
- Álvarez C E, A Ortega, M Fernández, A A Borges (2000) Growth, yield and leaf nutrient content of organically grown banana plants in the Canary Islands. Instituto de Productos Naturales y Abrobiología. CSIC. Fruits 2000. 56:17-26.
- Alves D S. M. R, T A L De Oliveira, A C Portugal P., J C Saraiva (2004) Avaliação de substratos e adubos orgânicos na aclimatização de plântulas de *Heliconia psittacorum*. Pesquisa Agropecaria Brasileira 39: 1049-1051.
- Asher C J, D G Edwards (1983) Modern solution culture techniques. *In*: Pirson A, Zimmermand MH (Eds). Encyclopedia of Plant Physiology Vol. 15-A. pp. 94-119.
- Baset-Mia M A, Shamsuddin Z H, Wahab Z, Marziah M (2010) Effect of plant growth promoting rhizobacterial (PGPR) inoculation on growth and nitrogen

- incorporation of tissue-cultured *Musa* plantlets under nitrogen-free hydroponics condition. *Australian Journal of Crop Science* 4: 85-90.
- Broschat T K, H Donselman (1983) *Heliconia* a promising new flower crop. *HortScience* 19: 736-737.
- Clemens J, Morton R H (1999) Optimizing mineral nutrition for flower production in *Heliconia* 'Golden Torch' using response surface methodology. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 124: 713-718.
- Coic Y (1973) Les problèmes de composition et de concentration des solutions nutritives en culture sans sol. *In: Proceedings of the 3rd. International Congress on Soilless Culture. Sassari, Italy. pp. 158-164.*
- Dell'Amico J M, M Parra (2005) Efecto del estrés por NaCl en el contenido de cloruros, el potencial osmótico real y el crecimiento de dos cultivares de tomate cubanos. *Cultivos Tropicales* 26: 39-44.
- Dimitiros S (2003) Hydroponic: A modern technology supporting the application of integrated crop management in greenhouse. *Food Agriculture and Environment* 1: 80-86.
- El-Naggar A H, El-Nasharty A B (2009) Effect of growing media and mineral fertilization on growth, flowering, bulbs productivity and chemical constituents of *Hippeastrum vittatum* Herb. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science* 6: 360-371.
- González L M, M C González, R Ramírez (2002) Aspectos generales sobre la tolerancia a la salinidad en las plantas cultivadas. *Cultivos Tropicales* 23: 27-37.
- Hoagland D R, D Arnon (1950) The water-culture for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station Circ.* 347: 1-32.
- Lara H A (2000) Manejo de la solución nutritiva en la producción de tomate en hidroponía. *Revista Terra* 17: 221-229.
- Magdaleno V J J, Peña L A, Castro B R, Castillo G A M, Galvis S A, Ramírez P F, Hernández H B (2006) Efecto de las soluciones nutritivas sobre el desarrollo de plántulas de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 12: 223-229

- Marschner H (1995) Mineral nutrition of higher Plants. 2nd ed. Academic Press, London. 889 p.
- Ramírez M L, Chulze S N, Magan N (2004) Impact of osmotic and matric water stress on germination, growth, mycelia water potential and endogenous accumulation of sugars and sugar alcohols in *Fusarium graminearum*. *Mycologia* 96: 470-478.
- Rodrigues P H V, Liner P A M, Ambrosano G M B, Batista M F (2005) Acclimatization of micropropagated *Heliconia bihai* (Heliconiaceae) plants. *Sciencia Agricola* 62: 299-301.
- SAS Institute (2000) SAS/STAT User's guide. Ver. 6. SAS Institute, Inc. Caray, NC. 1686 p.
- Segal B G (1989) Chemistry: Experiment and theory. Wiley. Nueva York, EEUU. 1008 pp.
- Steiner A A (1961) A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant Soil* 15: 134-154.
- Steiner A A (1966) The influence of the chemical composition of a nutrient solution on the production of tomato plants. *Plant Soil* 24: 434-466.
- Steiner A A (1968) Soilless culture. *In: Proc. 6th Colloq. Int. Potash Inst. Florence, Italy.* pp. 324-341.
- Steiner A A (1984) The universal nutrient solution. *In: Proc 6th Int. Cong. Soilless Cult.* pp. 633-649.
- Steiner A A, van Winden H (1970) Recipe for ferric salts of Ethylenediaminetetraacetic Acid. *Plant Physiology* 46: 862-863.
- Urrieta V J A (2006) Absorción de nitrógeno en plantas expuestas a soluciones con HN_4^+ y NO_3^- excluyentes. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.
- Vidal-Morales B (2007) Germinación *in vitro* y nutrición de heliconias. Tesis de Maestra en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México. 133 p.
- Zhang H X, Hodson J N, Williams J P, Blumwald E (2001) Engineering salt-tolerant Brassica plants: Characterization of yield and seed oil quality in

transgenic plants with increased vacuolar sodium accumulation. PNAS 98:
12832-12836.

Zhu J K (2001) Plant salt tolerance. Trends in Plant Science 6: 66-71.