



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Posgrado en Ciencias Biológicas

EVALUACIÓN DEL TRANSPORTE HÍDRICO FOLIAR
EXTERNO EN BROMELIÁCEAS EPÍFITAS

Tesis que presenta

NARCY ANAÍ PEREIRA ZALDÍVAR

En opción al título de

MAESTRO EN CIENCIAS

(Ciencias Biológicas: OPCIÓN RECURSOS NATURALES)

Mérida, Yucatán, México

2022

CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A. C.

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS



RECONOCIMIENTO

Por medio de la presente, hago constar que el trabajo de tesis de **Narcy Anai Pereira Zaldívar** titulado **“EVALUACIÓN DEL TRANSPORTE HÍDRICO FOLIAR EXTERNO EN BROMELIÁCEAS EPÍFITAS”** fue realizado en los laboratorios de la Unidad de Recursos Naturales, **Unidad de Biotecnología** y **Unidad de Energía Renovable** del **Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.** bajo la dirección de la **Dra. Casandra Reyes García**, dentro de la opción Recursos Naturales, perteneciente al Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas de este Centro.

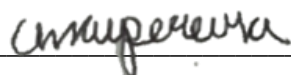
Atentamente,

Dra. Cecilia Hernández Zepeda
Directora de Docencia

Mérida, Yucatán, México, a 30 de noviembre de 2021

DECLARACIÓN DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en la sección de Materiales y Métodos Experimentales, los Resultados y Discusión de este documento proviene de las actividades de experimentación realizadas durante el período que se me asignó para desarrollar mi trabajo de tesis, en las Unidades y Laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y que a razón de lo anterior y en contraprestación de los servicios educativos o de apoyo que me fueron brindados, dicha información, en términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, le pertenece patrimonialmente a dicho Centro de Investigación. Por otra parte, en virtud de lo ya manifestado, reconozco que de igual manera los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que deriven o pudieran derivar de lo correspondiente a dicha información, le pertenecen patrimonialmente al Centro de Investigación Científica, A.C., y en el mismo tenor, reconozco que si derivaren de este trabajo productos intelectuales o desarrollos tecnológicos, en lo especial, estos se regirán en todo caso por lo dispuesto por la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, en el tenor de lo expuesto en la presente Declaración.



Narcy Anai Pereira Zaldívar

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer al CONACyT por la beca de maestría otorgada (CVU 936881), al proyecto CONACyT-INEGI 290916 por los recursos otorgados y al Centro de Investigación Científica de Yucatán, por todas las facilidades brindadas para la realización de esta tesis y recursos fiscales proporcionados.

Un sincero agradecimiento a mi directora de tesis, Dra. Casandra Reyes García. Gracias por todo el conocimiento transmitido, su paciencia, su guía y su apoyo.

A mi comité tutorial y comité revisor conformado por los Dres. José Luis Andrade, Manuel Cach, Luis Patiño y Claudia González Salvatierra, por sus valiosas aportaciones, sugerencias y comentarios. Gracias por haber enriquecido el proyecto con sus experimentados puntos de vista durante los exámenes tutoriales y revisión del documento.

Mi más sincera gratitud al Biol. Felipe Barredo, técnico de la Unidad de Biotecnología del CICY, por su invaluable ayuda en la obtención de muestras histológicas, por compartir su amplio conocimiento en la obtención de muestras histológicas y microscopía óptica. Gracias por todas las horas de apoyo y valioso entrenamiento en histología vegetal.

Al Dr. Luis Patiño por recibirme en su laboratorio de Sistemas Híbridos en la Unidad de Energía Renovable, por proporcionarme equipo y su ayuda para la toma de datos con el diodo láser infrarrojo y la cámara CCD.

A la Dra. Celene Espadas por su apoyo en campo para la colecta de ejemplares y su valiosa ayuda en la gestión de material, salidas de campo y entrenamientos para llevar a cabo el proyecto.

A la Dra. Lilia Can por su apoyo en el laboratorio y con el microscopio electrónico de barrido.

A mis amigos. Gracias al Biol. Félix Gerardo Ruz Quintal por el préstamo de valioso material de microscopía y ejemplares de bromelias epífitas para la obtención de muestras. Félix, sin tu ayuda, esta tesis no habría sido posible. Gracias al Biol. Brian Suárez Flores por siempre compartir conmigo tus puntos de vista sobre mis trabajos y tus conocimientos estadísticos. También gracias al Biol. José Daniel Tzuc Naveda por siempre estar ahí para escuchar y apoyarme en mis problemas académicos y personales. Gracias a los tres por darme su amistad todos estos años y por el apoyo brindado en todo momento durante la tesis.

Al M en C. Gabriel Cáceres por proporcionar ejemplares de varias especies extremadamente valiosas de bromelias epífitas usadas durante la tesis.

Gracias a mis compañeros de la Unidad de Energía Renovable. Al Dr. Raúl Rodríguez, gracias por el invaluable apoyo mediante la adaptación de equipo de óptica para la grabación las imágenes en infrarrojo, por tu amistad, conocimientos y tiempo brindado a lo largo de la etapa de trabajo con el diodo laser infrarrojo en la Unidad de Energía Renovable. También, gracias a la M. en ER Rosario Bautista, Dr. Víctor Marín e Ing. Edoardo Gil por su apoyo para la obtención de datos con el láser, por compartir conmigo su material y espacio de trabajo y por siempre hacerme sentir bienvenida en el laboratorio a pesar de la falta de espacio y material debido a la pandemia.

A mi madre por su invaluable apoyo a lo largo de toda la maestría y a lo largo de mi vida. Gracias por estar siempre ahí, escucharme y apoyarme en todo momento.

Gracias a todos mis compañeros de la Unidad de Recursos Naturales y Unidad de Energías renovables, en particular a los del Laboratorio de Fisiología Ecológica de Plantas y Laboratorio de Sistemas Híbridos por todo su apoyo y amistad.

DEDICATORIA

A mi madre, por todo su cariño, apoyo para alcanzar mis metas, aliento para siempre a seguir adelante, y sobre todo, por todo su amor. Gracias por enseñarme a través de tu ejemplo la perseverancia, fortaleza, resiliencia y dedicación a pesar de cualquier adversidad.

ÍNDICE	Página
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.....	3
ANTECEDENTES.....	3
1.1. Transporte hídrico y uso del agua en las plantas vasculares.....	3
1.2. Adaptaciones al ambiente epífita.....	4
1.3. Las funciones de los tricomas en las Bromeliaceae.....	5
1.4. Diversidad funcional de Bromeliaceae.....	8
1.5. La vasculatura de las hojas y el transporte hídrico en las Bromeliaceae epífitas.....	11
1.6. La espectroscopía del IR cercano y la detección y cuantificación de agua en sistemas biológicos.....	12
JUSTIFICACIÓN.....	16
PREGUNTAS.....	16
HIPÓTESIS.....	17
OBJETIVOS.....	18
General.....	18
Específicos.....	18
ESTRATEGIA EXPERIMENTAL.....	19
CAPÍTULO II.....	21
MATERIALES Y MÉTODOS.....	21

2.1 Especies y material vegetal.....	21
2.2. Transporte externo por tricomas	23
2.3. Transporte interno vascular	23
2.4. Obtención de variables anatómicas y fisiológicas	24
2.5. Análisis estadístico.....	28
CAPÍTULO III.....	31
RESULTADOS	31
3.1. Transporte hídrico	31
3.2. Características de los tricomas y sistema vascular en las especies analizadas.....	34
3.3. Correlación de las variables anatómicas.....	39
3.4. Características anatómicas relacionadas con el transporte hídrico externo.....	41
CAPITULO IV.....	43
DISCUSIÓN.....	43
4.1 Transporte hídrico	43
4.2. Relación del transporte externo con la anatomía de los tricomas y el sistema vascular.....	44
CAPÍTULO V	49
CONCLUSIÓN.....	49
5. Conclusiones	49
BIBLIOGRAFÍA	50
ANEXO	58

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1.1. Tricoma (a) seco y (b) mojado de <i>Tillandsia ionantha</i> . Modificado de Benzing (2000).	6
Figura 1.2. Arquitecturas foliares de distintos tipos funcionales de Bromeliaceae epífitas. (a) bromelia formadora de tanque (Tipo IV); (b) tanque somero (intermedia entre tipo V y IV) y (c), (d) y (e) no formadoras de tanque (Tipo V), pseudobulbosa, acicular y filiforme, respectivamente.	11
Figura 1.3. Partición de la radiación incidente en radiación reflejada, absorbida y transmitida y (b) modos para registrar la interacción de la radiación y la materia.	13
Figura 1.4. Espectro de reflectancia de la superficie adaxial de <i>Spathiphyllum lynnise</i> . Se señalan las cinco bandas de absorción del agua. Modificado de Seelig <i>et al.</i> (2008).	16
Figura 2.1. (a) Disposición real del experimento con diodo láser infrarrojo y cámara CCD y lente SWIR en modo de reflexión. (b) Ilustración del experimento con la gota de agua.	24
Figura 2.2. Micrografía de tricomas de <i>Guzmania</i> sp. obtenidos mediante la técnica de García-Gutierrez <i>et al.</i> (2020) (solución de Franklin modificada) como prueba preliminar. (a) Tricomas a 10x, tamaño en píxeles: 2560x1920 y (b) tricomas a 4x en microscopio óptico digital Celestron II, tamaño en píxeles: 1316.64 x 987.48. La flecha roja indica que es posible distinguir el diámetro del tricoma para calcular el área.	26
Figura 2.3. Corte transversal de la sección media de una hoja madura de <i>T. elongata</i> var. <i>subimbricata</i> a 10x y 40x (izquierda a derecha) y ejemplo de las secciones de la anatomía vascular a medir. DIV: distancia entre haces vasculares, DIE=distancia de la venación a la epidermis y DV= diámetro del conducto vascular. Vp y Vs indican venación principal y secundaria, respectivamente. X=xilema, F=floema y fi=fibras.	28
Figura 2.4. Gráfico de caja de la distancia entre el haz vascular y la epidermis para las	28

caras adaxiales (adax) y abaxiales (abax) de las hojas de 16 especies de bromeliáceas.

Figura 3.1

(a) Velocidad del agua de dos vías de transporte hídrico, externo e interno, los datos de transporte externo corresponden a la media por especie (N = 3-5) $\bar{X} \pm EE$; los datos de transporte interno se estimaron con datos de literatura, por lo que no se tienen réplicas. (b) Velocidad promedio del agua en los dos tipos de transporte hídrico de las nueve especies de bromeliáceas que presentaron transporte externo (n=9) $\bar{X} \pm EE$. (c) Esquema de los dos tipos de transporte hídrico en Bromeliaceae con ambas vías. (d) Velocidad promedio del agua al interior del xilema en el grupo que presentó transporte externo (TE) (n=9) y el grupo que no lo presentó (n=8) $\bar{X} \pm EE$.

32

Figura 3.2

Transporte hídrico externo. (a) Imagen 1 (0.01min) del experimento de transporte hídrico externo en *T. yucatanana* y (b) imagen 30 (0.5 min) del mismo experimento con señales de transporte de agua a lo largo de la superficie de la hoja de *T. yucatanana*, en rojo se indica el área ocupada por el agua. (c) y (e) Imagen 1 (0.01 min) del experimento de transporte hídrico externo en *T. funckiana* y *T. brachycaulos*, respectivamente y (d) y (f) Imagen 480 (8 min) del mismo experimento sin señales del transporte a lo largo de las hojas en *T. funckiana* y *T. brachycaulos*, respectivamente. La flecha azul vincula la imagen inicial del experimento con la imagen final correspondiente de cada especie.

33

Figura 3.3

VARIABLES ANATÓMICAS DE LOS TRICOMAS DE LAS NUEVE ESPECIES CON TRANSPORTE EXTERNO CONTRA LAS OCHO QUE NO TRANSPORTARON EL AGUA SOBRE LA EPIDERMIS. Se indican los valores de P y t de las comparaciones de la prueba de t de Student.

36

Figura 3.4

DIÁMETRO DE LAS TRAQUEIDAS Y DIV:DIE DE LAS NUEVE ESPECIES CON TRANSPORTE EXTERNO CONTRA LAS OCHO QUE NO TRANSPORTARON EL AGUA SOBRE LA EPIDERMIS. Se indican los valores de P y t de las comparaciones con la prueba de t de Student.

38

Figura 3.5

DIÁMETRO DE LAS TRAQUEIDAS EN LAS TRES SECCIONES DE LA HOJA: BASE, MEDIA Y PUNTA, DE CUATRO ESPECIES DE BROMELIÁCEAS EPÍFITAS. Los valores promedio con error estándar se presentan en el anexo.

39

ÍNDICE DE CUADROS

Páginas

- Cuadro 2.1.** Especies utilizadas, su procedencia y la fuente a partir de la cual se obtuvieron los datos de morfometría vascular y tricomas. Se presentan las referencias en el caso de los datos obtenidos de literatura y se refiere la técnica utilizada en el caso de los datos obtenidos del trabajo realizado. Nt: no formadora de tanque, T: tanque, Ts: tanque somero. 22
- Cuadro 3.1** Datos anatómicos de los tricomas en 17 especies de bromeliáceas epífitas. La densidad es el número de tricomas por mm². Los datos son promedio ± EE, n=3-5. NA=datos faltantes debido a n=1. Los superíndices indican la fuente de los datos: *Este estudio, 1 Cach-Pérez *et al.* (2016), (Datos y micrografías); 2 Stefano *et al.* (2008), (Datos); 3 Kim *et al.* (2020); 4 Benz y Martin, (2006), y 5 Pierce (2007), (Micrografías). ++ Datos obtenidos a partir de micrografías, por lo que no se cuenta con réplicas. 35
- Cuadro 3.2** Diámetro de las traqueidas, distancia intervenal (IVD), distancia del haz vascular a la epidermis (VED) y relación IVD: VED. El superíndice “1” indica los datos de Males (2017a). Los datos se presentan como promedio (N= 5 para diez especies de este estudio y N = 50 para ocho especies de Males, (2017a). 37
- Cuadro 3.3** Coeficiente de correlación de Pearson entre seis variables anatómicas de 17 especies de bromeliáceas epífitas. Los valores con * ** indican relaciones significativas con P<0.05. 40
- Cuadro 3.4** Modelo de regresión logística del transporte hídrico externo con las variables independientes seleccionadas por el algoritmo *stepwise* bidireccional. Modelo basado en chi cuadrada como prueba de significancia. Devianza nula: 23.508 con 16 grados de libertad, devianza residual:11.168 con 14 grados de libertad, AIC:17.168 y score del número de iteraciones de Fisher: 6. 41

ABREVIATURAS

ANOVA	Análisis de varianza
°C	Grados Celsius
CAM	Metabolismo ácido de las crasuláceas
CCD	charged-coupled device (dispositivo cargado-acoplado)
CO ₂	Dióxido de Carbono
DIV	Distancia intervenal
DIE	Distancia de la venación a la epidermis
DIV-DIE	Razón de DIV/DIE como medida de inversión en el sistema vascular
m ²	Metro cuadrado
mm ²	Milímetro cuadrado
mm s	Milímetros por segundo Milimoles
mmoles	Milimoles por metro cuadrado por segundo
mmol m ⁻² s ⁻¹	
µm	Micrómetros
MPa	Mega Pascal
Pa	Pascales
K _{hoja}	Conductancia hídrica total de la hoja
K _x	Conductancia hídrica de un solo xilema
r	Radio del xilema
P	Gradiente de presión hidrostática
x	Longitud de la hoja o distancia que el agua debe recorrer
η	Viscosidad del agua
s	Segundos
SWIR	Short wave infrared (Infrarrojo de onda corta)

RESUMEN

La familia Bromeliaceae cuenta con integrantes altamente especializados en la forma de vida epífita. La adopción del epifitismo en esta familia se asocia a adaptaciones novedosas para la vida en el dosel, entre ellas se encuentran los tricomas foliares en la epidermis, que son capaces de absorber agua en forma de lluvia y/o condensada del rocío y la neblina, lo que hace que estas plantas no dependan del sistema sustrato-raíz para la adquisición de este recurso. Otras funciones adicionales que se han atribuido a los tricomas incluyen la mejora en la distribución del agua sobre la superficie de la hoja para su posterior absorción, así como su intervención en el transporte hídrico foliar a manera de vía alterna al transporte hídrico interno del xilema. No obstante, solo se cuenta con dos estudios cuantitativos en dos especies de bromeliácea epífitas sobre esta posible función. El objetivo de este trabajo fue evaluar el transporte hídrico externo en las hojas de 17 especies de Bromeliaceae epífitas pertenecientes a distintos grupos funcionales, así como su relación con la densidad, distribución y tamaño de los tricomas y con el grado de inversión en el sistema vascular. Para esto, se recurrió al uso de un diodo laser infrarrojo y cámara CCD (charge-coupled device) con lente SWIR (Short wave infrared), para la visualización y cálculo de la velocidad del agua de la vía externa sobre los tricomas. Se utilizó la ecuación de Hagen-Poiseuille para el cálculo de la conductividad hídrica vascular interna. Asimismo, se recurrió a técnicas histológicas y de microscopía óptica, junto con recopilación de datos de la literatura para relacionar características anatómicas de los tricomas y del sistema vascular con el transporte hídrico, especialmente con el externo. Los resultados de este trabajo han demostrado que el transporte hídrico externo entre los tricomas se presenta en nueve especies de bromeliáceas epífitas no formadoras de tanque y que es más veloz que el transporte interno en el xilema. Asimismo, este transporte se encuentra relacionado con tricomas grandes y con una alta densidad de ellos. No se encontró relación con la inversión en los tricomas y la inversión en el sistema vascular. Esto sugiere que las Bromeliaceae epífitas pueden invertir en un sistema vascular con mayor proporción de haces vasculares o traqueidas de mayor diámetro, a la vez que invierten en instrumentos de tricomas de gran tamaño y densidad. La inversión puede relacionarse con las necesidades para conducción del agua en los distintos ambientes y microclimas que habitan, pero también con otros factores que no se estudiaron como el soporte mecánico o la necesidad de fotoprotección, que se relacionan con los mismos caracteres medidos.

ABSTRACT

The Bromeliaceae family is highly specialized in the epiphytic life form. The adoption of epiphytism in this family is associated with novel adaptations for life in the canopy such as foliar trichomes in the epidermis, capable of directly absorbing water from atmospheric precipitation (in the form of rain, dew or fog) without depending on the substrate-root system. Besides water absorption, other functions have been attributed to the bromeliad trichomes, such water conduction on the surface of the leaf, for its subsequent absorption. Constituting an alternative route to the internal water transport via the xylem. However, there are only two quantitative studies in only two species of epiphytic bromeliads on this alternative transport. Therefore, the objective of this work was to evaluate the external water transport in the leaves of 17 epiphytic species of Bromeliaceae that belong to different functional groups and their relationship with the density, overlapping and size of the trichomes; as well as with the degree of investment in the vascular system. To achieve this, we used an infrared laser diode and a CCD (charge-coupled device) camera with a SWIR (Short wave infrared) lens were used to visualize and quantify the speed of water conduction through the external pathway (between the surface and the trichomes). The Hagen-Poiseuille theoretical model was used to calculate the internal vascular fluid conductance, using data found in the literature as well as anatomical data measured in this study. Likewise, histological and optical microscopy techniques were used, together with a compilation of literature to relate anatomical-morphometric trichome and vascular system traits, and relate these to water transport, particularly external transport. The results of this thesis have shown that external water transport by capillarity between the trichomes of epiphytic bromeliads is possible in nine non-tank species and is a faster pathway of water transport than the xylem. The capacity for external transport was related to larger and denser trichomes. No relationship was found between trichome and vascular system investment, which suggests that investing in a higher proportion of vascular bundles and / or larger tracheid diameters may coexist with a high investment in the trichomes. The level of investment in trichomes and xylem may depend both on the needs of each species for water conduction on the different environments they inhabit as well as other factors such as the need for support or photoprotection, which can also relate to the studied traits.

INTRODUCCIÓN

Para las plantas vasculares la vida en el microambiente epífita dentro del dosel conlleva diversos desafíos (Laube y Zotz, 2003). Entre ellos, se encuentran cambios diarios y estacionales en la disponibilidad hídrica, acompañados de mayor radiación y demandas evaporativas a la vez que no cuentan con acceso al agua del suelo para reponer las pérdidas de este recurso por transpiración (Reyes-García *et al.* 2012; Chávez-Sahagún *et al.* 2019). Por lo tanto, las plantas que han evolucionado para abandonar el sustrato terrestre a cambio de la vida en el dosel presentan sus propias adaptaciones fisiológicas, anatómicas y morfológicas. Entre ellas la fotosíntesis CAM, los tricomas absorbentes, arquitecturas foliares en forma de tanque, succulencia en hojas y los xilemas formados en mayor medida por traqueidas (Martin, 1994; Benzing, 2000; Carlquist, 2012; Males, 2017a).

La adopción del epifitismo en la familia Bromeliaceae se asocia a adaptaciones novedosas para la vida en el dosel (Givish *et al.*, 2014). Una de las más notables es el desarrollo de estructuras localizadas en la epidermis de las hojas, que son capaces de absorber directamente la precipitación en forma de lluvia y otras formas como la neblina y el rocío al momento que se encuentran condensados (Benzing 1976, Pierce *et al.* 2001; Ohrui *et al.* 2007). La presencia de estas estructuras, conocidas como tricomas foliares, conlleva a que la adquisición de agua en estas plantas sea independiente del sistema sustrato-raíz (Benzing, 2000, Ohrui *et al.*, 2007). Los tricomas se presentan en distintas densidades y morfología entre las especies de bromeliáceas epífitas, siendo más numerosas en las que no presentan reservorios externos de agua entre sus hojas, que llamaremos aquí no formadoras de tanque (atmosféricas) (Benzing, 1976; Benzing *et al.*, 1978; Martin 1994; Benz y Martin, 2006; Cach- Pérez *et al.*, 2016).

Aunque la capacidad de absorción es una de las funciones más conocidas de los tricomas (Benzing 1976, Pierce *et al.* 2001; Ohrui *et al.* 2007); también se han reportado funciones adicionales (Benzing y Renfrow, 1971; Martin, 1994; Benz y Martin, 2006; Ohrui *et al.*, 2007; Pierce, 2007). Un ejemplo de lo anterior es que promueven la conducción del agua hacia la base central del tricoma (por capilaridad) para su posterior absorción y su intervención en el transporte hídrico foliar externo a manera de vía alterna al transporte hídrico interno del xilema (Herppich *et al.*, 2019, Ha *et al.*, 2021).

Cabe señalar que el sistema vascular de las bromeliáceas epífitas se encuentra poco

desarrollado y se basa en traqueidas con baja conducción hídrica (Males, 2017a). Por otra parte, la vía de transporte externo mediado por los tricomas parece ser más veloz que el sistema vascular (Herppich *et al.*, 2019; Ha *et al.*, 2021). En los estudios de Herppich *et al.* (2019) y Ha *et al.* (2021), esta función ha sido constatada de manera cualitativa y cuantitativa únicamente para *Tillandsia useoides* (L.) L. y con algunas referencias también a *Tillandsia ionantha* Planch. Por lo tanto, en este trabajo se planteó: 1) ¿Se encuentra en otras especies de bromeliáceas epífitas este medio de transporte externo?, 2) ¿Es una vía de transporte hídrico más veloz que el xilema?, 3) ¿Con qué características de los tricomas se encuentra más asociada su presencia? Y 4) ¿Existe alguna relación indirecta con características del sistema vascular (ej. reducción en tamaño e inversión en haces vasculares)?

CAPÍTULO I

ANTECEDENTES

1.1. TRANSPORTE HÍDRICO Y USO DEL AGUA EN LAS PLANTAS VASCULARES

En las plantas existe un constante balance para mantener un estatus hídrico óptimo, ya que durante el intercambio de gases se pierde gran cantidad de agua en las hojas por medio de la transpiración (Lambers *et al.*, 2008). Esta pérdida ocurre a través de los estomas durante la toma de CO₂ que es indispensable para la fotosíntesis (Taiz y Zeiger, 2003).

La transpiración permite el flujo del agua a lo largo del xilema en el continuo suelo-planta-atmósfera estableciendo diferencias en los potenciales hídricos entre órganos, tejidos y células de la planta (Lambers *et al.*, 2008). Estas diferencias determinan la dirección del movimiento del agua, ya que ésta tenderá a moverse hacia sitios con menor potencial hídrico (Nobel, 2009). Por lo tanto, el potencial hídrico permite cuantificar la tendencia del agua para fluir de un sitio a otro en respuesta a un determinado proceso físico (Lambers *et al.*, 2008).

Los conductos del xilema están conformados por dos tipos de células, los vasos o las traqueidas. Generalmente estas últimas son más angostas y la membrana que separa a una célula de la siguiente se encuentra sin disolver, a diferencia de los vasos, por lo que existe mayor resistencia al flujo del agua. Independientemente de las diferencias estructurales de ambos tipos, los conductos más anchos son más eficientes debido a que conducen mayor volumen de agua (Nobel, 2009). No obstante, existe un compromiso (*trade off*) entre la eficiencia y la seguridad para la conducción y transporte de agua (Nobel, 2009). Con conductos de xilema más anchos la cavitación representa una mayor amenaza. Por otro lado, conductos angostos como los formados por traqueidas o vasos del xilema angostos, son menos eficientes al presentar mayor resistencia al flujo de agua, pero son seguros y menos costosos para su reparación en casos de cavitación (Carlquist, 2012). El peso que se asignará a una u otra parte del *trade off* depende del contexto ambiental en el que han evolucionado las especies. En un ambiente con baja demanda evaporativa del aire y precipitación constante, como una selva lluviosa se puede mantener mayor eficiencia debido al bajo riesgo de cavitación. Por el contrario, una planta de zonas áridas que se encuentra bajo condiciones de alta demanda evaporativa o una planta con disponibilidad hídrica discontinua, como en un ambiente epífita, representan casos en los que se debe contar con mayor seguridad en lugar de eficiencia (Carlquist, 2012).

La conductancia estomática está relacionada con la tasa de transpiración que genera la tensión necesaria para que ocurra el flujo de agua al interior del xilema de las hojas. Este flujo del agua es lo que se conoce como la conductancia hídrica de la hoja o K_{hoja} . Para su cálculo se suelen combinar modelos ideales del flujo laminar como el de Hagen–Poiseuille, para determinar la K_x (conductancia hídrica de un solo conducto del xilema) y luego con métodos destructivos, como el de flujo evaporativo, se calcula la conductancia hídrica para toda la hoja (North *et al.*, 2013; Males, 2017a). Esta medida nos da una idea de la velocidad a la que se moverá el agua. La K_x se ve afectada por variables como los gradientes de presión hidrostática, que puede ser el gradiente de potencial hídrico al interior de la hoja, así como las variables anatómicas como el diámetro y la longitud del conducto del xilema (Nobel, 2009).

1.2. ADAPTACIONES AL AMBIENTE EPÍFITO

Las epífitas vasculares constituyen un modelo interesante para el estudio de las relaciones hídricas, especialmente del transporte hídrico, ya que se han desviado del modelo tradicional suelo-planta-aire observado en otras plantas vasculares. En las epífitas se suele observar reducción vegetativa, hojas suculentas y/o arquitecturas foliares en forma de roseta formando un tanque para el almacén de agua (Zotz, 2016). Asimismo, gran parte de sus especies presentan conductancias hídricas y sistemas vasculares reducidos basados en traqueidas (Males, 2017a), como estrategia para evitar la pérdida de agua debido a la disponibilidad hídrica discontinua que prevalece en el dosel (Benzing, 2000; Givnish *et al.* 2014; Zotz, 2016).

Aunque el metabolismo C_3 se puede encontrar entre las especies epífitas, hay una prevalencia del metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM), mismo que se encuentra tanto en especies de ambientes áridos como en los sitios expuestos de las selvas lluviosas (Benzing, 2000). Si bien la vía CAM no es una característica obligatoria para el epifitismo, contribuyó a la conquista de ecosistemas más áridos o con sequías estacionales (Givnish *et al.* 2014), debido a que este metabolismo promueve el máximo ahorro del recurso hídrico respecto a la fotosíntesis C_3 (Nobel, 2009).

En la fotosíntesis CAM, el intercambio gaseoso ocurre principalmente durante la noche, cuando la demanda evaporativa del aire y pérdida de agua por transpiración son menores (Nobel, 2009). Esto se logra por la presencia de la enzima Fosfoenol Piruvato Carboxilasa (PEPc por sus siglas en inglés) que durante la noche se encarga de la fijación del CO_2 , generalmente en forma de ácido málico. El ácido málico es almacenado en las vacuolas celulares para que durante el día

(con los estomas cerrados) sea descarboxilado y el CO₂ sea fijado por la enzima ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (RuBisCO), dando inicio al ciclo de Calvin (Lambers *et al.*, 2008). Debido a la necesidad de vacuolas de gran tamaño, este metabolismo se suele asociar a plantas con hojas o tejidos suculentos (Males, 2017b).

Para varias especies de Bromeliaceae epífitas que presentan la vía CAM se han reportado bajas tasas de transpiración. Esto podría estar relacionado con su sistema vascular poco desarrollado como un mecanismo de respuesta para reducir la pérdida de agua (Males, 2017a). También se ha sugerido que la necesidad de contar con células suculentas altamente vacuoladas en plantas con vía CAM, podría conllevar bajas densidades estomáticas como otra vía para reducir la transpiración (Males y Griffiths, 2017). Por ejemplo, en Bromeliaceae terrestres C₃, se han reportado valores de conductancia estomática de 0.24 mol m⁻² s⁻¹ (Males, 2017a), mientras que las Bromeliaceae con fotosíntesis CAM, incluidas especies epífitas, se han obtenido valores de conductancia estomática mucho más bajos (menores a 0.02 mol m⁻² s⁻¹) (Males, 2017a). Aunque con una baja transpiración se reduce la pérdida de agua, también se puede reducir la tensión generada para que se transporte el agua por el xilema (Medina, 1990; Males, 2017a).

Por otra parte, para la vida en el dosel es importante un anclaje seguro al sustrato hospedero. Por lo tanto, órganos como las raíces presentan una alta esclerificación (que proporciona durabilidad y fuerza mecánica) como la que se observa en algunos taxones epífitos de la familia Bromeliaceae. En este grupo el órgano predominante son las hojas, la raíz se encuentra considerablemente reducida y el tallo puede estar ausente. A diferencia de sus contrapartes terrestres, en las bromeliáceas epífitas la absorción de agua y nutrientes es más importante mediante los tricomas foliares que a través de la raíz (Benzing 2000; Leroy *et al.* 2019). Con estrategias como esta, el área destinada a la absorción de agua y nutrientes abarca prácticamente toda la superficie de la planta y se compensa la reducción en tamaño y funcionalidad de la raíz (Benzing, 2000).

1.3. LAS FUNCIONES DE LOS TRICOMAS EN LAS BROMELIACEAE

Los tricomas foliares de las bromeliáceas son estructuras con forma de escama que consisten en un disco central de cuatro células de igual tamaño con paredes gruesas. Las denominadas “células del anillo”, se encuentran rodeando al disco central y se conforman por un mayor número de células que éste. A su vez, las células del anillo están rodeadas por un ala conformada por células más elongadas (Figura 1.1) (Benzing *et al.*, 1976; Benzing, 2000). Las células de cada

sección mencionada son células muertas con paredes gruesas e impermeables, a excepción de un “tallo” de células vivas (células de domo y pie) que se encuentra bajo el disco central (Figura 1.1) (Benzing *et al.*, 1976).

Cuando no se encuentran hidratadas, las alas de los tricomas se disponen de manera perpendicular al disco central y al anillo. Al entrar en contacto con el agua el volumen del disco central y del anillo aumentan y el ala se flexiona hacia abajo, quedando paralela a la superficie de la epidermis. Con esta acción, el agua puede ser conducida hacia las células del disco central para difundirse por ósmosis al interior de las células del domo y ser conducida por el resto del tallo hacia el mesófilo (Figura 1.1) (Benzing, 1976; Benzing, 2000).

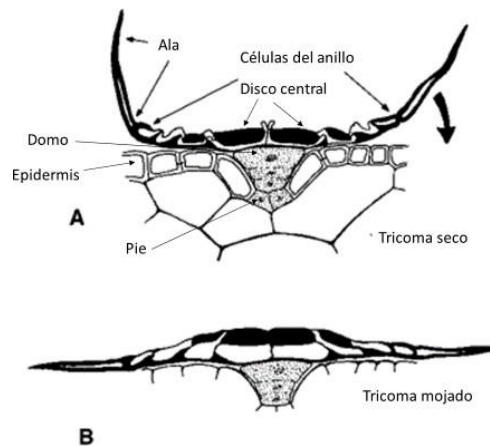


Figura 1.1. Tricoma A) seco y B) mojado de *Tillandsia ionantha*. Modificado de Benzing (2000).

Cabe mencionar que la capacidad de absorción de los tricomas puede diferir entre las especies de Bromeliaceae epífitas (Benzing *et al.*, 1976; Pierce, 2007). Por ejemplo, en las especies de la subfamilia Tillandsioideae, sobresale la capacidad de los tricomas foliares para la absorción de agua y nutrientes (Benzing *et al.*, 1976). Anatómicamente, sus tricomas también presentan mayor tamaño y densidad, así como células del domo más grandes que las de las otras subfamilias (Benzing y Burt, 1970).

Según Benzing y Burt (1970), la capacidad de absorción no se correlaciona directamente con la frecuencia de los tricomas, sino con el área de la superficie foliar que ocupan las células del tallo. Por lo tanto, se podría pensar que estas plantas pueden invertir en un mayor número de tallos o en un mayor tamaño de ellos para incrementar su superficie de absorción de agua y nutrientes. Sin embargo, según estos autores, la presencia de estos tallos no siempre se asocia a alta capacidad de absorción. En estudios posteriores como el de Ohri *et al.* (2007), se determinó que la capacidad

de absorción de las células del tallo puede incrementar con el aumento en la cantidad de acuaporinas que permiten el paso del agua en las células del tallo. Dicho esto, altas densidades de tricomas se podrían relacionar con funciones adicionales a la capacidad de absorción.

Otras de las funciones que se han adjudicado a estas estructuras, además de la absorción, son la protección a los estomas para reducir la pérdida de agua, así como proteger la superficie foliar del exceso de radiación solar observados en algunas especies (Benzing *et al.*, 1976; Pierce, 2007). Estudios como el de Pierce (2007), reportaron que los tricomas de algunas especies con densos indumentos confieren fotoprotección gracias a su alta reflectancia. Así mismo, se ha propuesto la importancia de estas estructuras para transportar el agua, ya que esta se difunde rápidamente para formar una película uniforme y delgada entre los tricomas y la epidermis (Herppich *et al.*, 2019). No obstante, solo los estudios de Herppich *et al.* (2019) y Ha *et al.* (2021), presenta información cuantitativa de la eficiencia de dicho transporte, aunque se limita a la especie *Tillandsia usneoides* (L.) L y *Tillandsia ionantha* Planch, aunque esta última especie no fue analizada en extenso. Mediante la aplicación de la técnica de radiografía de neutrones fríos, Herppich *et al.* (2019) demostraron que el transporte entre los tricomas puede ser más importante que el transporte vascular para *T. usneoides*, mientras que Ha *et al.* (2021), llega a las mismas conclusiones para la misma especie y *T. ionantha* aplicando tinciones y microscopía de fluorescencia. Las dos especies de *Tillandsia* mencionadas presenta alta densidad y superposición de los tricomas (Stefano *et al.*, 2008). Por lo tanto, para comprender el papel de los tricomas para el transporte hídrico en las bromeliáceas epífitas se deben llevar a cabo estudios que incluyan a más integrantes epífitos de esta familia con distintas morfologías (grupos funcionales) y que presenten distintas densidades y tamaños de tricomas.

Por otra parte, en las especies de Bromeliaceae epífitas también se distinguen gradientes en la densidad de los tricomas a lo largo de la hoja (Cach-Perez *et al.*, 2016). En el estudio llevado a cabo en la Península de Yucatán por Cach-Pérez *et al.* (2016), se reportaron diferencias en la densidad de tricomas entre secciones de la hoja y en el patrón de las densidades a lo largo del gradiente longitudinal de la hoja entre el haz y envés en varias especies de la región, la mayoría del género *Tillandsia* L. Si bien los patrones de densidad de tricomas respecto a las de los estomas se reportaron como variables entre especies (Cach-Pérez *et al.*, 2016), estos podrían depender de los requerimientos de las especies, por ejemplo, en algunas podría ser conveniente la protección por parte de los tricomas a los estomas (Benzing *et al.*, 1976; Pierce, 2007) y en otras la superposición de ambas estructuras podría evitarse para no retardar el intercambio de

gases cuando la epidermis se encuentra mojada (Benzing y Burt, 1970) o para permitir la condensación de rocío sobre la epidermis (Pierce et al. 2007).

Aunado a lo anterior, se ha reportado que también existe plasticidad en los gradientes de densidad de los tricomas (y también de los estomas) en las especies que habitan en más de un ecosistema con condiciones ambientales contrastantes. En algunos casos la variación intraespecífica resulta mayor que la interespecífica (Cach-Pérez *et al.*, 2016). Dicho lo anterior, es importante considerar la influencia de las condiciones ambientales y microambientales, como la radiación solar y las fluctuaciones temporales y espaciales de la precipitación, sobre el modelado de la distribución de los tricomas. Así mismo, en la escala temporal corta (plasticidad) y en las grandes escalas temporales, estos factores ambientales han contribuido a modelar la evolución de distintos patrones en la configuración de las estructuras de la epidermis (tricomas y estomas) que se presentan en las distintas especies y poblaciones de bromeliáceas epífitas (Benzin, 2000; Givinish *et al.*, 2014).

1.4. DIVERSIDAD FUNCIONAL DE BROMELIACEAE

El estudio de las diferentes estrategias que han desarrollado las especies de bromeliáceas para el uso del agua, condujo a su clasificación en tipos ecológicos o grupos funcionales, según sus síndromes ecofisiológicos. De estos sistemas, sobresale el de Pittendrigh (1948), modificado por Benzing (2000). Según esta clasificación se tienen cinco grupos funcionales, de los cuales dos contienen a especies terrestres con raíces absorbentes pero distintos metabolismos (CAM y C₃). Los tres tipos restantes se conforman por epífitas (III, IV y V), cuyos principales criterios de separación son el metabolismo (CAM o C₃) y la presencia / ausencia de un tanque formado por sus hojas que se unen en la base en disposición de roseta. No obstante, entre estos grupos de epífitas también se pueden encontrar formas intermedias que se encuentran en los límites de un grupo y otro.

Las especies formadoras de tanque pertenecen a los tipos III y IV. La presencia de dicha estructura les permite almacenar agua y nutrientes procedentes de la acumulación de materia orgánica que luego pueden ser absorbidos por los tricomas foliares (Figura 1.2). El tipo III, contiene a las especies del grupo metabólico C₃, que generalmente son de la subfamilia Tillandsioideae como, por ejemplo, las especies del género *Catopsis* Griseb. o *Guzmania* Ruiz & Pav. Por otro lado, en el tipo IV se encuentran las especies formadoras de tanque con fotosíntesis CAM. Por lo general, las especies de este grupo pertenecen a la subfamilia Bromelioideae como,

por ejemplo, las especies de *Aechmea* Ruiz & Pav y *Neoregelia* L.B.Sm. (Benzing, 2000). Las especies tanque se suelen encontrar en ambientes o microambientes en los que las precipitaciones en forma de lluvia son la fuente predominante del recurso hídrico, por lo que no se presentan altas densidades de tricomas, aunque siempre existen excepciones (Benzing, 2000). Se ha sugerido que algunas especies tanque CAM como *Tillandsia makoyana* Baker, podrían sobrevivir a las temporadas secas favoreciendo la condensación de agua sobre sus hojas (rocío) y almacenándola en el hidrénquima (Reyes *et al.*, 2012). En las especies tanque se presentan menores densidades de tricomas (Benzing, 2000; Males, 2017a), ya que no es necesario absorber tan rápido el agua si se cuenta con un tanque como almacén externo (Reyes *et al.*, 2012) y en el caso de algunas especies como *T. makoyana*, podría dificultar la condensación del agua. De acuerdo con Pierce (2007), la cutícula de la hoja es el núcleo de la condensación y no el ala del tricoma.

Por otro lado, las especies que no forman tanque (tipo V de Benzing, también conocidas como atmosféricas), suelen ser epífitas obligadas con prevalencia de fotosíntesis CAM. Además, la raíz ejerce la función principal de anclaje al sustrato o forofito y la absorción de agua y nutrientes ocurre principalmente a través de tricomas. Entre estas especies se observa una mayor variedad de arquitecturas foliares que en las formadoras de tanque. Algunas de las arquitecturas que podemos observar son pseudobulbosas (ej. *Tillandsia balbisiana* Schult. f.), aciculares, con hojas similares a las de los pinos formando la roseta (ej. *Tillandsia juncea* (Ruiz & Pav.) Poir.), y filiformes que, a diferencia de las anteriores, presentan tallos reducidos de las cuales se derivan hojas delgadas (ej. *Tillandsia recurvata* (L.) L. o *Tillandsia schiedeana* Steud.) (Ramirez *et al.*, 2004) (Figura 1.2). Debido a la ausencia de un tanque para almacenar el agua, estas especies suelen ser de hojas altamente suculentas que almacenan el agua internamente en un abundante hidrénquima. Estos tejidos permiten acumular el recurso hídrico durante la temporada lluviosa.

No obstante, almacenar grandes cantidades de agua al interior de las hojas en ambientes con altas temperaturas, considerando la alta capacidad calorífica del agua, representa un obstáculo para la condensación y deposición de fuentes alternativas de precipitación como el rocío (Chávez- Sahagún *et al.*, 2019), el cual se condensa en hojas más frías que la temperatura del aire. Cabe mencionar que existen excepciones como *T. juncea* que presenta baja suculencia, pero cuyas hojas aciculares permiten la captura de neblina (Martorell y Ezcurra, 2007). Por lo tanto, se ha sugerido que especies con hojas gruesas y mayor suculencia dependen en mayor

medida del agua de lluvia almacenada en los tejidos. Por el contrario, las especies que presentan hojas delgadas con menor grado de succulencia serían mejores candidatas para captar los pulsos de precipitación en forma de rocío o neblina, especialmente en combinación con característica morfológicas como hojas delgadas y largas (Reyes y Griffiths, 2009; Reyes-García *et al.*, 2012). Así mismo, es común que este tipo de bromeliáceas presenten densos indumentos de tricomas asociados a la ausencia de tanque para una rápida absorción de los pulsos de agua que llegan a la superficie de las hojas (Benzing, 2000; Reyes-García *et al.*, 2012; Chávez-Sahagún *et al.*, 2019, Males, 2017a).

Por último, se encuentran formas intermedias entre las especies del tipo IV y tipo V. Estas son especies CAM que forman un tanque somero (Figura 1.2). Se les suele clasificar como tipo V, a pesar de que pueden almacenar pequeñas cantidades de agua en su roseta. No obstante, la estructura formada por su roseta no entraría a la categoría de tanque como el de las del tipo IV. Algunas de las especies en las que podemos encontrar este término medio son *Tillandsia brachycaulos* Schltld., *Tillandsia elongata* Kunth var. *subimbricata* (Baker) L. B. Sm., *Tillandsia flexuosa* SW., *Tillandsia polystachia* (L.) L y *Tillandsia variabilis* Schltld. Aunque en la literatura se les suele considerar como tipo V (atmosféricas de tanque somero o semi-tanque; Ramirez *et al.*, 2004), en el presente trabajo se le considerará únicamente como tanque somero.

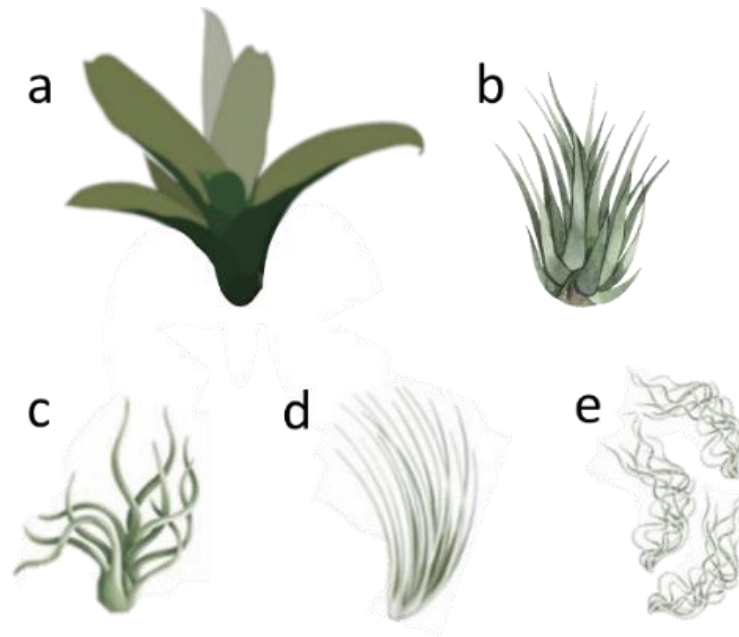


Figura 2. Arquitecturas foliares de distintos tipos funcionales de Bromeliaceae epífitas. (a) bromelia formadora de tanque (Tipo IV); (b) tanque somero (intermedia entre tipo V y IV) y (c), (d) y (e) no formadoras de tanque (Tipo V), pseudobulbosa, acicular y filiforme, respectivamente.

1.5. LA VASCULATURA DE LAS HOJAS Y EL TRANSPORTE HÍDRICO EN LAS BROMELIACEAE EPÍFITAS

En las Bromeliaceae, como en otras monocotiledóneas, la venación se dispone de manera paralela (Benzing, 2000). En general el sistema vascular de estas plantas se compone por traqueidas con diámetros sumamente reducidos, mientras que los elementos de los vasos suelen encontrarse ausentes en la mayoría de las especies (Benzing, 2000; Males, 2017a). Cabe mencionar que la estructura interna varía entre taxones y entre órganos dentro de la misma planta (Males, 2017a).

Aunque la mayoría de las bromeliáceas presentan un mesófilo diferenciado y células de la vaina rodeando los haces vasculares, en algunas epífitas no formadoras de tanque, como *T. usneoides*, no ocurre diferenciación e incluso se limitan a la conducción mediante tres a cinco haces vasculares de alrededor de 6 μm de diámetro (Benzing, 2000).

Además de un sistema vascular reducido, las tasas de conductancia hídrica foliar de las Bromeliaceae suelen ser menores que las de otras monocotiledóneas (North *et al.*, 2013). Por

ejemplo, pastos como *Oplismenus hirtellus* (L.) P. Beauv., han reportado valores de conductancia hídrica de la hoja de $20 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$ (Brodrribb *et al.*, 2007), mientras que para las especies de Bromeliaceae no se encuentran reportes que alcancen la mitad de esa cifra (Males, 2017a).

Entre los grupos funcionales de las Bromeliaceae se ha reportado variación en la conductancia hídrica foliar (K_{hoja}). De acuerdo con el estudio realizado por Males (2017a), en varias especies de todos los grupos funcionales de Bromeliaceae, las epífitas no formadoras de tanque CAM (Tipo V) presentaron menor velocidad de conducción con valores de $0.01\text{-}0.03 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$. Por otro lado, la K_{hoja} resultó mayor en las formadoras de tanque con vía CAM (0.14 y $0.28 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$) y aún mayor en las formadoras de tanque con metabolismo C_3 ($0.49\text{-}1.84 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ MPa}^{-1}$).

Estas K_{hoja} tan bajas en las especies no formadoras de tanque coincide con lo encontrado por Herppich *et al.* (2019). En dicho estudio, realizado sobre la especie *T. usneoides*, se reportó ausencia de transporte hídrico a través de los haces vasculares durante los 40 minutos de duración de su experimento con radiografía de neutrones fríos. En esta especie, la baja eficiencia de conducción se compensa con una vía de transporte hídrico alterna entre los tricomas en la superficie de la hoja (Herppich *et al.*, 2019). Aunque, no se ha realizado más estudios al respecto, este patrón de conducción hídrica se podría encontrar en otras especies no formadoras de tanque.

1.6. LA ESPECTROSCOPIA DEL INFRAROJO CERCANO Y LA DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE AGUA EN SISTEMAS BIOLÓGICOS

El descubrimiento de la energía infrarroja cercana se remonta al año 1800. No obstante, es hasta la segunda mitad del siglo XX que se dio un gran desarrollo en la instrumentación, especialmente para aplicación en la industria. Desde ese entonces, en las ciencias vegetales se ha reconocido su gran potencial, principalmente para uso en el campo agrícola por la naturaleza no destructiva de sus métodos (Siesler *et al.*, 2008).

La espectroscopía, reúne una serie de métodos para analizar la interacción entre la radiación electromagnética y la materia, mediante la absorción o emisión de energía radiante (Herrmann y Onkelinx, 1986). Estos métodos se pueden clasificar en: 1) métodos de absorción (basados en la disminución de la potencia de un haz de radiación electromagnética al interactuar con un material o sustancia), 2) métodos de emisión (basados en la radiación que emite una sustancia

cuando es previamente excitada por otro tipo de energía) y 3) métodos de fluorescencia (basados en la radiación emitida por una sustancia que es previamente excitada por radiación electromagnética). Los métodos espectroscópicos también se clasifican en función de la región del espectro electromagnético que emplean, como las de alta energía de los rayos X y ultravioleta u otras de menor energía como la luz visible y el infrarrojo (Rubinson *et al.*, 2000).

Cuando un flujo radiante incide sobre la superficie de una muestra o medio ocurren tres procesos: absorción, transmisión y reflexión (Figura 1.3). La aplicación de la ley de la conservación de la energía sugiere que la suma de los tres procesos del flujo incidente es igual a la unidad (Palmer, 2009). Dicho esto, la composición de la muestra, o las propiedades de los materiales que la conforman, determinan la proporción en la que se repartirá la radiación incidente en cada uno de los tres posibles procesos. La ley de Beer-Lambert expresa el modo en que la materia absorbe la luz o radiación, por lo que esta ley relaciona la atenuación de la luz y las propiedades del material a través del cual viaja la luz (Siesler *et al.*, 2008). La radiación puede disminuir debido a tres fenómenos: 1) la concentración; 2) la distancia que la radiación debe atravesar y 3) el coeficiente de extinción (probabilidad de absorción de una onda con una amplitud en particular por parte del fotón) (Palmer, 2009).

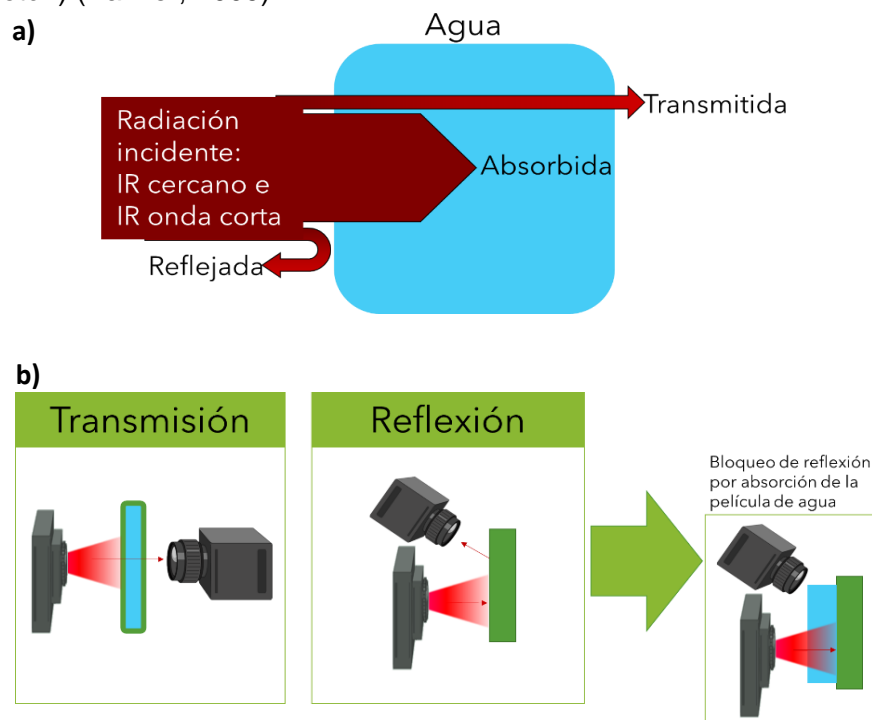


Figura 1.3. (a) Partición de la radiación incidente en radiación reflejada, absorbida y transmitida y (b) modos para registrar la interacción de la radiación y la materia.

Los métodos y principios de la óptica y espectroscopía se aplican en diversas áreas como la física, medicina, química analítica y biología (Siesler *et al.*, 2008). Algunas de las aplicaciones incluyen la cuantificación del contenido de diferentes cromóforos como proteínas, lípidos, azúcares y agua (Cao *et al.*, 2013; Salo *et al.*, 2014). La región del infrarrojo cercano permite estudiar la presencia del agua en órganos y tejidos, ya que no presentan un riesgo para los seres vivos debido a su baja energía y a sus longitudes de ondas que son absorbidas por el agua (el agua no absorbe la mayoría de las longitudes) (Cao *et al.*, 2013; Salo *et al.*, 2014). Por lo tanto, al exponer determinado objetivo a la radiación infrarroja cercana se observa la atenuación de las ondas en los sitios que contienen agua, mientras que la materia distinta al agua no las atenúa.

Dentro del rango del infrarrojo cercano, generalmente se reconocen dos ventanas ópticas; la primera, es el infrarrojo cercano tradicional (NIR) (650-950 nm), y la segunda, es conocida como el infrarrojo de onda corta (SWIR) (950-1600 nm) (Salo *et al.*, 2014). Dado que ambas se encuentran dentro del rango espectral del infrarrojo cercano, al SWIR se le conoce también como infrarrojo extendido para diferenciarlo de las longitudes de onda tradicionales.

Para el agua, se han reportado cinco bandas de absorción en los rangos del NIR y SWIR, centrados cerca de 970, 1200, 1450, 1930 y 2500 nm (Figura 1.4) (Seelig *et al.*, 2008). La información del contenido de una muestra usando las regiones NIR y SWIR se suele registrar como el espectro de absorción a través de la medición de la transmisión o de la medida de la reflectancia difusa con un espectrómetro o instrumento de grabación para dichas regiones del espectro (Siesler *et al.*, 2002). En el caso del agua, el estudio de Lubnow *et al.* (2018), empleó un diodo láser infrarrojo en longitudes de onda cercanas a 1400 nm y una cámara SWIR, dispuestos en configuraciones de reflexión y de transmisión que permitieron la captación de imágenes para la medición del grosor de películas de agua y para mediciones en tiempo real de las dinámicas del flujo del agua.

En sistemas biológicos no se han encontrado trabajos cuantitativos en tiempo real que impliquen el estudio de la película de agua al exterior de un organismo con las técnicas mencionadas; ya que para ello se suele recurrir a otras técnicas. Por ejemplo, Herppich *et al.* (2019), utilizaron la radiografía de neutrones fríos, en modo de reflexión, para capturar en tiempo real el movimiento del agua sobre la epidermis de *T. usneoides*. Por el contrario, las técnicas de espectroscopía NIR y SWIR se emplean para determinar exitosamente la presencia y contenido de agua y otros cromóforos endógenos. Un ejemplo es el estudio de Cao *et al.* (2013), en el que se obtuvieron

imágenes detalladas de las estructuras anatómicas de la cabeza de un ratón mediante la transmisión en el SWIR. Asimismo, en sistemas vegetales, Kim *et al.* (2015), obtuvieron imágenes del contenido hídrico de hojas con distinto grado de desecación utilizando un diodo láser entre los 800 y 1600 nm y una cámara SWIR en disposición de transmisión. Por lo tanto, existe todo un campo para la exploración de estos métodos y tecnologías, especialmente en las ciencias vegetales, considerando que incluso se cuentan con el trabajo de Jacquemound y Baret (1990) y Jacquemound y Ustin (2008) sobre el modelado de las propiedades ópticas de las hojas.

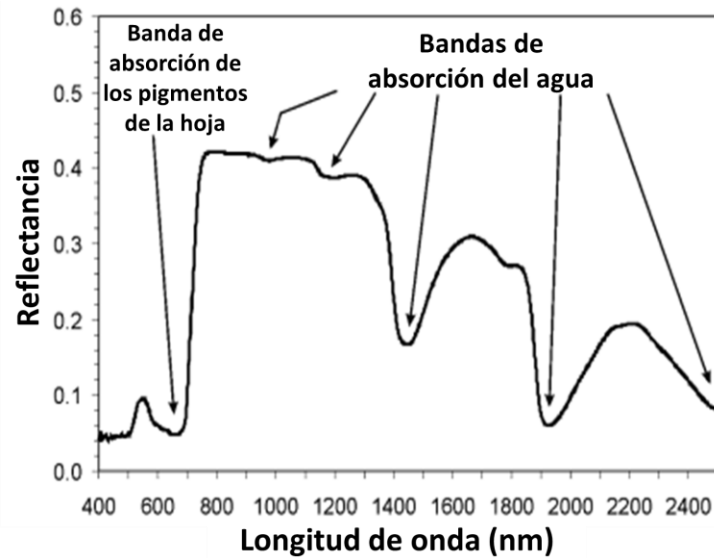


Figura 1.4. Espectro de reflectancia de la superficie adaxial de *Spathiphyllum lynnise*. Se señalan las cinco bandas de absorción del agua. Modificado de Seelig *et al.* (2008).

Dicho lo anterior, en el presente trabajo se evaluó el transporte hídrico externo en las hojas de 17 especies de Bromeliaceae epífitas de distintas morfologías y grupos funcionales (Cuadro 1). Dichas especies fueron seleccionadas por presentar distintas densidades de tricomas, que a simple vista sugieren la presencia o ausencia de transporte hídrico en ellas. Además, las especies presentan distintas arquitecturas generales de las hojas, lo cual apunta hacia distintas estrategias anatómicas, morfológicas y fisiológicas para el transporte y el uso del agua. Para evaluar lo anterior, se recurrirá a caracterizaciones anatómicas, cálculo teórico de la conducción vascular del agua y otros recursos menos explorados en las ciencias vegetales como la espectroscopía NIR y SWIR, con el uso de un diodo láser infrarrojo y cámara CCD con lente SWIR.

JUSTIFICACIÓN

Las bromeliáceas epífitas son un modelo vegetal con modificaciones anatómicas especializadas, como los tricomas foliares para la absorción hídrica. No obstante, aún quedan preguntas sin resolver sobre otras posibles funciones de estas estructuras, específicamente sobre su papel en el transporte hídrico. Considerando que para las bromeliáceas epífitas se ha reportado un sistema vascular poco desarrollado o reducido, así como bajas conductancias hídricas, surgen las preguntas de si los tricomas podrían funcionar como un sistema de transporte hídrico alternativo al xilema en la conducción del agua y qué tan difundido se encuentra este sistema en las especies epífitas de Bromeliaceae. Estas preguntas son importantes desde un punto de vista evolutivo y contribuyen a comprender como las interacciones de las plantas y su medio ambiente moldean y dan como resultado la modificación de estructuras anatómicas y fisiológicas altamente especializadas y únicas. Sin embargo, aunque existen estudios anatómicos que especulan sobre la naturaleza funcional de los tricomas, es importante la obtención de evidencia tangible que vincule la anatomía de las estructuras y su función de manera experimental. En este trabajo se caracterizó y relacionó la anatomía con el aspecto funcional de los tricomas para el transporte hídrico calculado de manera experimental en 17 especies de bromeliáceas epífitas.

PREGUNTAS

¿En qué especies de bromeliáceas epífitas es posible el transporte hídrico externo entre los tricomas?

¿Qué vía de transporte hídrico, externa (epidérmica) o interna (vascular), conduce con mayor velocidad el agua en las especies de bromeliáceas epífitas pertenecientes a distintos grupos funcionales y diferentes morfologías?

¿Qué características anatómicas influyen directa (ej. tamaño, densidad y traslape de tricomas, distancia entre discos) o indirectamente (diámetro del xilema y arquitectura vascular) sobre el transporte externo del agua en las especies de bromeliáceas?

HIPÓTESIS

1. Las especies de bromeliáceas epifitas con tanque o tanque somero no presentarán transporte de agua externo sino únicamente transporte hídrico vascular. Las especies sin tanque, o atmosféricas, presentarán transporte hídrico externo como vía complementaria del transporte hídrico vascular.
2. A mayor densidad, tamaño de tricomas, grado de traslape y menor distancia entre discos se presentará transporte externo, así como una menor inversión en el sistema vascular (mayor distancia entre venas que respecto a la epidermis) y menores diámetros del xilema (reducción). Por el contrario, a menor densidad, tamaño de tricomas y grado de traslape, así como mayor distancia entre discos, se espera un sistema vascular con mayor inversión (menor distancia entre venas que respecto a la epidermis) y diámetros de los conductos del xilema, así como la ausencia del transporte externo.

OBJETIVOS

GENERAL

Evaluar el transporte hídrico externo en las hojas de 17 especies de Bromeliaceae epífitas pertenecientes a distintos grupos funcionales y su relación con la densidad, distribución y tamaño de los tricomas, así como con el grado de inversión (grado de desarrollo) en el sistema vascular.

ESPECÍFICOS

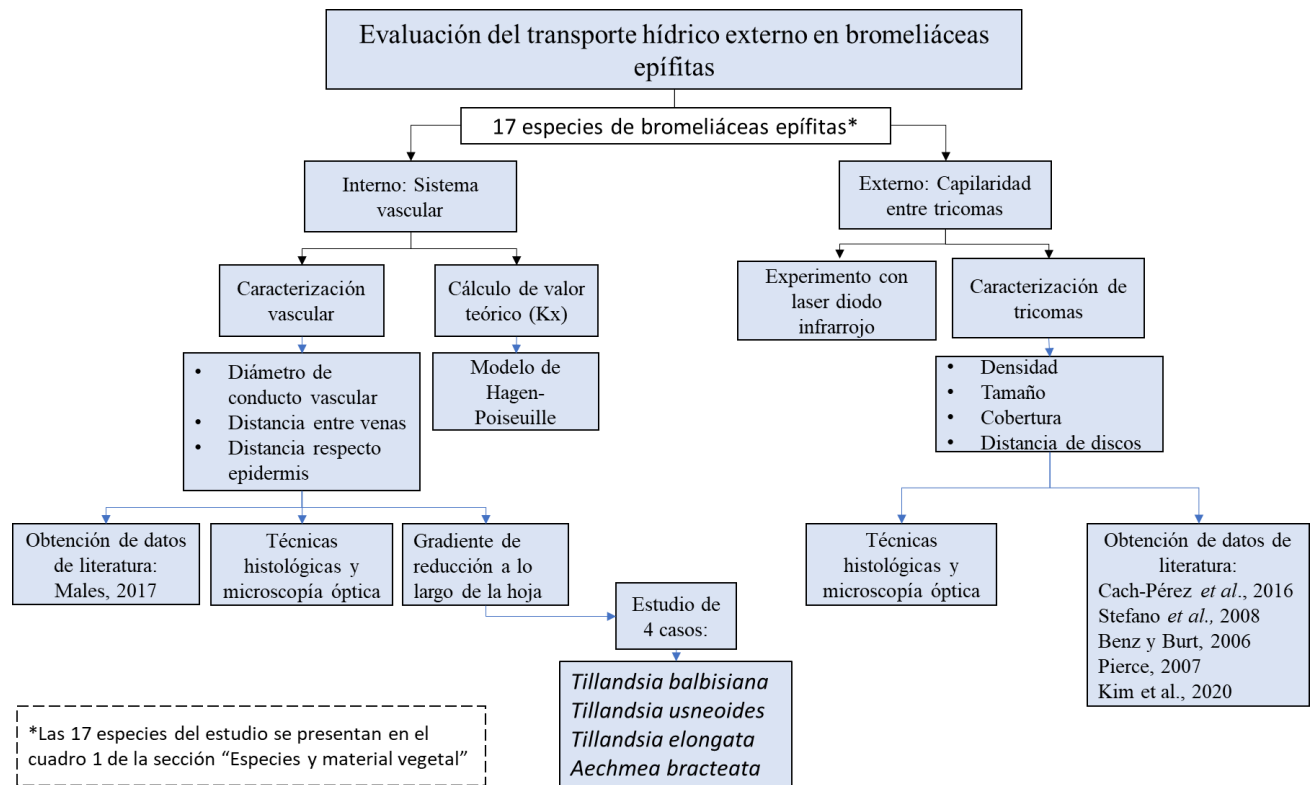
Estimar la velocidad del transporte externo entre tricomas en 17 especies de bromeliáceas epífitas con distintos tamaños, densidades y grado de traslape de tricomas, así como distintas distancias entre los discos de los tricomas, mediante el uso de técnicas ópticas en el infrarrojo cercano.

Contrastar el transporte externo por tricomas con el transporte a través de los haces vasculares mediante experimentos con técnicas ópticas y valores teóricos en nueve especies de bromeliáceas epífitas.

Caracterizar los gradientes morfométricos al interior (arquitectura vascular) de las hojas, de cuatro de las 17 especies de bromeliáceas pertenecientes a distintas arquitecturas foliares y grupos funcionales.

Establecer la relación de características anatómicas de los tricomas (tamaño, densidad, traslape y distancia entre discos) y del sistema vascular de las 17 especies con la velocidad del transporte externo del agua (vía tricomas).

ESTRATEGIA EXPERIMENTAL



CAPÍTULO II**MATERIALES Y MÉTODOS****2.1. ESPECIES Y MATERIAL VEGETAL**

Las especies usadas en las distintas etapas experimentales consistieron en individuos adultos de 17 especies de bromeliáceas epífitas (Cuadro 2.1). Se incluyeron especies representantes de no formadoras de tanque, especies con tanque y de la forma intermedia de tanque somero. Entre las especies no formadoras de tanque se encuentran distintas morfologías foliares (pseudobulbosas, filiformes y aciculares) (Figura 2.1), así como distintas morfologías, tamaños, densidades y distribución de los tricomas. Los individuos de las especies mencionadas se colectaron en el Parque Nacional Dzibilchaltún, la ciudad de Mérida, el municipio de Telchac puerto y en Celestún (todos pertenecientes al estado de Yucatán), así como en el municipio de Calakmul, al sur del estado de Campeche, México. Así mismo, se utilizaron individuos adultos de procedencia comercial y de colecciones privadas. En el cuadro 2.1, se señala la procedencia de cada especie. Cabe señalar que, para mantener la mayor congruencia posible en los datos, cada especie se colectó en los mismos ecosistemas reportados para los datos de literatura utilizados para complementar las mediciones anatómicas. Los individuos se mantuvieron en los invernaderos del CICY bajo condiciones de luz natural. Para todas las especies se colectaron 1-5 individuos, los cuales se dejaron bajo riego natural por lluvia complementado con riego por atomización tres veces por semana durante la temporada seca (noviembre-abril). Los experimentos se llevaron a cabo en hojas sanas y bien desarrolladas, las cuales se mantuvieron adheridas a la planta.

Cuadro 2.1. Especies utilizadas, su procedencia y la fuente a partir de la cual se obtuvieron los datos de morfometría vascular y tricomas. Se presentan las referencias en el caso de los datos obtenidos de literatura y se refiere la técnica utilizada en el caso de los datos obtenidos como parte del trabajo realizado. Nt: no formadora de tanque, T: tanque, Ts: tanque somero.

Especie	Clasificación de Benzing (2000)	Clasificación en este trabajo	Procedencia de los individuos	Fuente de datos vasculares	Fuente de datos de tricomas
<i>Aechmea bracteata</i> (Sw.) Griseb.	Tipo IV	T	Colección CICY, Mérida	Técnicas histológicas	Cach-Pérez <i>et al.</i> , 2013
<i>Guzmania sp.</i> Ruiz & Pav.	Tipo III	T	Comercial (Flores de Chiltepec)	Proxy: <i>Guzmania monostachia</i> (L.) Rusby ex Mez de Males, 2017a	Técnica de García-Gutiérrez <i>et al.</i> , 2020
<i>Tillandsia balbisiana</i> Schult. & Schult. f.	Tipo V	Nt	Dzibilchaltún	Técnicas histológicas	Cach-Pérez <i>et al.</i> , 2013
<i>Tillandsia brachycaulos</i> Schtdl.	Tipo V	Ts	Dzibilchaltún	Males, 2017a	Cach-Pérez <i>et al.</i> , 2013
<i>Tillandsia caput medusae</i> (Ruiz & Pav.) Poir.	Tipo V	Nt	Colección privada	Males, 2017a	Stefano <i>et al.</i> , 2008; Pierce, 2007
<i>Tillandsia dasyliriifolia</i> Baker	Tipo IV	T	Telchac puerto	Técnicas histológicas	Cach-Pérez <i>et al.</i> , 2013
<i>Tillandsia elongata</i> Kunth var. <i>subimbricata</i> (Baker) L. B. Sm	Tipo V	Ts	Dzibilchaltún	Técnicas histológicas	Cach-Pérez <i>et al.</i> , 2013
<i>Tillandsia funckiana</i> Baker	Tipo V	Nt	Colección privada	Técnicas histológicas	Técnica de García-Gutiérrez <i>et al.</i> , 2020
<i>Tillandsia ionantha</i> Planch.	Tipo V	Nt	Colección privada	Males, 2017a	Stefano <i>et al.</i> , 2008; Benz y Martin, 2006
<i>Tillandsia juncea</i> (Ruiz & Pav.) Poir.	Tipo V	Nt	Calakmul	Males, 2017a	Cach-Pérez <i>et al.</i> , 2013
<i>Tillandsia recurvata</i> (L.) L.	Tipo V	Nt	Mérida	Técnicas histológicas	Cach-Pérez <i>et al.</i> , 2013
<i>Tillandsia schiedeana</i> Steud.	Tipo V	Nt	Mérida	Técnicas histológicas	Cach-Pérez <i>et al.</i> , 2013
<i>Tillandsia streptophylla</i> Scheidw. ex E. Morren	Tipo V	Nt	Celestún	Técnicas histológicas	Cach-Pérez <i>et al.</i> , 2013
<i>Tillandsia polystachia</i> (L.) L.	Tipo V	Ts	Calakmul	Males, 2017a	Técnica de García-Gutiérrez <i>et al.</i> , 2020
<i>Tillandsia usneoides</i> (L.) L.	Tipo V	Nt	Colección CICY, Mérida	Técnicas histológicas	Cach-Pérez <i>et al.</i> , 2013; Stefano <i>et al.</i> , 2008; Kim <i>et al.</i> , 2020
<i>Tillandsia utriculata</i> L.	Tipo IV	T	Telchac puerto	Males, 2017a	Cach-Pérez <i>et al.</i> , 2013; Técnica de García-Gutiérrez <i>et al.</i> , 2020
<i>Tillandsia yucatanana</i> Baker	Tipo V	Nt	Mérida	Técnicas histológicas	Cach-Pérez <i>et al.</i> , 2013

2.2. TRANSPORTE EXTERNO POR TRICOMAS

Para visualizar el transporte hídrico externo (por tricomas) y estimar su velocidad *in vivo*, es decir, con las hojas aún adheridas a las plantas, se irradiaron de tres a cinco hojas seleccionadas en cada una de las 17 especies de bromeliáceas con un diodo láser infrarrojo ajustado a 980 nm (región en donde se encuentra un pico de absorción del agua y que presenta una reflectancia foliar máxima). Esta longitud de onda, permitió un contraste óptimo para observar la presencia de agua, que se aprecia en las imágenes como un oscurecimiento con respecto a las zonas secas.

Para grabar el movimiento del agua se utilizó una cámara “charge-couple device” (CCD) Point Gray USB 3.0 (FLIR® Systems, Inc., Oregon, USA.), que se colocó en modo de reflexión junto con el diodo láser y la hoja de la planta (Figura 2.1.a). Para cada video se tomaron un total de 480 imágenes de 8 y 16 bits durante 8 minutos, es decir una imagen por segundo. La información capturada por la cámara se procesó en el software SpinView 2.2.0.48 (FLIR® Systems, Inc., Oregon, EEUU). Este proceso se llevó a cabo en el laboratorio de sistemas híbridos del CICY y las plantas analizadas se mantuvieron en resguardo, sin riego un mínimo de dos días antes del experimento para asegurar que las hojas se encontraran totalmente secas (en el caso de las especies tanque la estructura se vació dos días antes).

Durante el experimento, se depositó una gota de agua con una pipeta graduada sobre la sección media del haz de una hoja madura y sana, para que posteriormente fuera detectada por el láser. Para seleccionar la cantidad de agua de la gota, se realizaron pruebas con distintos tamaños entre los 10 y 300 μl , siendo 10 μl la cantidad de agua que fue posible mantener sobre las hojas más pequeñas de la muestra de 17 especies sin pérdida de agua excedente por falta de superficie foliar para contenerla. Fue importante no perder agua excedente para poder mantener una cantidad estándar para todas las especies.

La gota se aplicó en distintos momentos en el haz de tres hojas distintas (un mismo individuo debido a dificultad para conseguir ejemplares) como réplica del experimento (N=51) en cada una de las 17 especies. Cada réplica del experimento se llevó a cabo por separado. Primero, se depositó una gota en una de las hojas mientras se irradiaba con el diodo láser, se videograba el proceso de transporte del agua y se registraba el tiempo de duración del transporte (Figura 5.b). Después de esto, con cada video, se calculó la velocidad del transporte del agua como la

distancia recorrida/tiempo. Para medir la distancia recorrida, se incluyó una reglilla (cm y mm) al momento de la grabación como referencia y las plantas se mantuvieron en posición fija con la ayuda de un bastidor con pinzas (Figura 2.1.a). Para calcular el tiempo, se programó en el software de la cámara la captura de una imagen por segundo. El conteo del tiempo se inició con la imagen del segundo en el que la gota se encontraba completamente en contacto con la hoja y se concluyó en la imagen del segundo en el que la gota llegó al centímetro 4 de la reglilla respecto al sitio de depósito de la gota. La distancia de 4 cm se seleccionó por ser un tamaño conveniente para grabar e irradiar con el diodo láser, ya que muchas de las hojas presentan irregularidades y curvaturas que pueden dificultar la irradiación homogénea de secciones grandes de la hoja. Dicho lo anterior, únicamente el margen espacial fue homogéneo y controlado para todas las especies, mientras que se permitió la variación temporal.

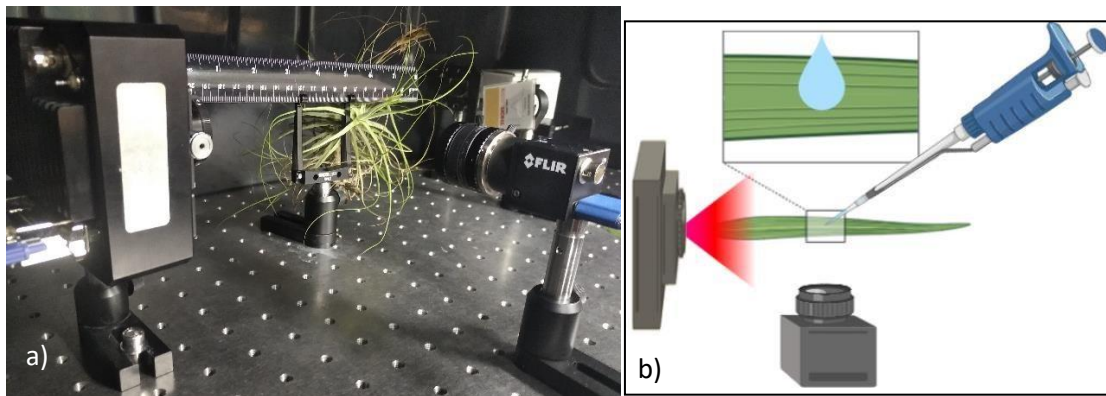


Figura 2.1. (a) Disposición real del experimento con diodo láser infrarrojo y cámara CCD y lente SWIR en modo de reflexión. (b) Ilustración del experimento con la gota de agua.

2.3. TRANSPORTE INTERNO VASCULAR

La velocidad del agua al interior del xilema de las bromeliáceas epífitas se calculó utilizando el modelo el flujo laminar del agua de Hagen-Poiseuille (Nobel, 2009) en las 17 especies de bromeliáceas epífitas.

$$Jv = - \frac{r^2}{8\eta} \frac{\partial P}{\partial x}$$

Donde:

r es el radio del xilema

P es el gradiente de presión hidrostática, en este caso el gradiente de potencial hídrico

x es la longitud de la hoja o distancia que el agua debe recorrer

η es la viscosidad del agua

Para estimar el gradiente de presión hidrostática se promediaron los valores de potencial hídrico a punto de pérdida de turgor por grupo funcional del estudio de Males, (2017), como potencial hídrico final en contraposición con el valor del potencial hídrico inicial que se estableció en cero. Para las especies atmosféricas el potencial hídrico final utilizado fue de 0.857 MPa, para las tanque CAM fue de 1.069 MPa y para la única tanque C_3 -CAM, *Guzmania* sp., se utilizó el valor de 1.013 MPa correspondiente al grupo de epifitas C_3 . La longitud de las hojas se estimó con el promedio de la longitud de cinco hojas de distintos individuos. Los diámetros de las traqueidas del xilema se estimaron a partir de imágenes de microscopía óptica que se complementaron con los datos del estudio de Males (2017) (Cuadro 2.1). Para la viscosidad del agua, se consideró el valor a 20°C (1.0×10^{-3} Pa. s) (Nobel, 2009). En el cuadro 1 del anexo se presentan los datos obtenidos para el cálculo del modelo.

2.4. OBTENCIÓN DE VARIABLES ANATÓMICAS Y FISIOLÓGICAS

2.4.1. Tricomas

A partir de los datos de Cach-Pérez *et al.* (2016) y Stefano *et al.* (2008) se obtuvieron los promedios de las densidades de tricomas (número de tricomas por mm^2) para el haz o cara adaxial, para todas las especies, excepto de *Guzmania* sp., *Tillandsia funckiana* y *Tillandsia polystachia*, cuyos datos no se encuentran disponibles en literatura. Los tamaños promedio calculados (área en mm^2) para toda la hoja se tomaron de las mismas fuentes bibliográficas mencionadas y de las microfografías de Pierce (2007), Benz y Martin (2006) y Kim *et al.* (2021), para todas las especies excepto *Guzmania* sp., *Tillandsia funckiana*, *Tillandsia polystachia* y *T. utriculata*, cuyos datos no se encuentran disponibles en literatura.

Por lo tanto, para las especies sin datos disponibles, se calculó y promedió la densidad de tricomas de la sección media del haz en tres hojas. Así mismo, se estimó el área promedio de los tricomas para todo el haz. Para ello, se seleccionaron hojas bien desarrolladas de la parte

media de la roseta ($n=3$) y se utilizó la solución de Franklin modificada por García-Gutiérrez *et al.* (2020), para separar la epidermis de la hoja. Posteriormente, se tiñeron las muestras de epidermis con O-toluidina al 0.05% y se colocaron en un porta objetos para visualizar y fotografiar en el microscopio óptico de contraste con objetivo de 10x para la medición de área de lostricomos y con el objetivo 4x para el conteo en un área de $500 \mu\text{m}^2$ (Figura 2.2.) (los resultados se presentan para un área de 1mm^2) (Cach-Pérez *et al.*, 2013).

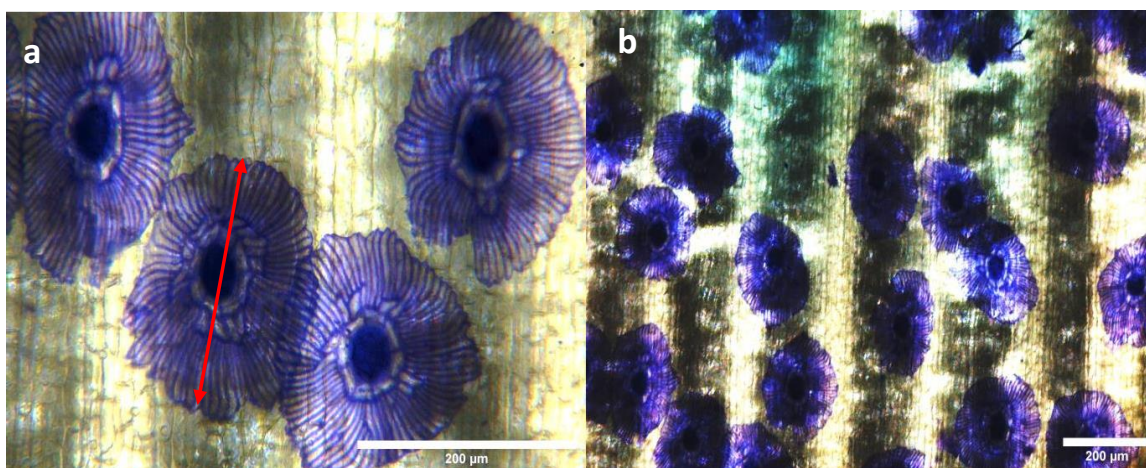


Figura 2.2. Micrografía de tricomas de *Guzmania* sp. obtenidos mediante la técnica de García-Gutiérrez *et al.* (2020) (solución de Franklin modificada) como prueba preliminar. a) tricomas a 10x, tamaño en píxeles: 2560x1920 y b) tricomas a 4x en microscopio óptico digital Celestron II, tamaño en píxeles: 1316.64 x 987.48. La flecha roja indica que es posible distinguir el diámetro del tricoma para calcular el área.

Una vez obtenidos los datos de tamaño y densidad de los tricomas de todas las especies, se calculó el grado de superposición o traslape multiplicando el área promedio de los tricomas por el número promedio de tricomas en 1mm^2 .

Aunado a lo anterior, también se midió la distancia entre los discos de los tricomas (distancia del centro de un disco al centro del disco del vecino más cercano) para cada especie a partir de las micrografías de microscopio electrónico de barrido de Cach-Pérez *et al.* (2013), y de las micrografías de microscopio óptico obtenidas.

2.4.2. Arquitectura vascular

Para complementar y comprender mejor la dinámica del transporte del agua al interior de las hojas, se caracterizó la arquitectura vascular de la hoja en la sección media. Por lo tanto, se

realizaron cortes histológicos. Se llevaron a cabo cortes transversales de la sección media de la hoja de 5 individuos por especie. Para *Tillandsia juncea*, *T. ionantha*, *T. caputmedusae*, *T. utriculata*, *T. brachycaulos* y *T. polystachia* se utilizaron los datos de anatomía vascular de Males (2017), por lo que las mediciones mencionadas se realizaron solo en 11 de las 17 especies del estudio. En el caso de *Guzmania* sp. se utilizaron los datos de *Guzmania monostachia* de Males (2017) como *proxy*.

Para estudiar el gradiente de disminución del sistema vascular, se analizaron las cuatro especies utilizadas para estudiar el transporte interno apical-distal y distal-apical (*T. usneoides*, *T. balbisiana*, *T. elongata* y *A. bracteata*), y se caracterizó cada una de las tres secciones de la hoja (basal, medial y distal) de cinco individuos por especie.

Los cortes se obtuvieron con técnicas histológicas para preparaciones fijas a partir de inclusión del material vegetal en resina (JB-4 Embedding Kit, Sigma-Aldrich). Para esto se depositaron y fijaron las muestras de material vegetal recién seccionado en un cuadro de 1x1 cm en solución de formaldehído (10%), etanol (50%), ácido acético glacial (5%) y agua destilada (35%) durante dos semanas. Posteriormente se hicieron lavados de cada muestra con agua destilada cada 1 ½ hora y dos ciclos de deshidratado cada dos horas con etanol por cada concentración de 30%, 50%, 70%, 85%, 96% y etanol absoluto (a 70% se dejaron reposar 48 horas con renovación de etanol a la mitad del ciclo). Terminado este proceso, las muestras se colocaron en la “solución A” con catalizador del JB-4 Embedding Kit (Sigma-Aldrich) durante dos semanas y al finalizar se enmoldaron e infiltraron con el polimerizante del kit. Después de 24 horas se desmoldaron, secaron y cortaron en un microtomo ajustado para cortes de 4-5 µm de grosor; estos cortes se colocaron en portaobjetos y se llevaron a cabo tinciones para anatomía general (O-toluidina al 0.1% en buffer fosfato). Las tinciones se visualizaron en microscopio óptico a 4x, 10x y 40x para fotografiar y llevar a cabo las mediciones de distancia intervenal (DIV), distancia de la venación principal hacia la epidermis (DIE) considerando las distancias más cortas y el diámetro de los conductos vasculares (DV) de mayor tamaño de las venaciones principales (en cortes transversales) (Figura 2.3.). Se calculó el promedio para cada una de dichas mediciones por cada especie. Para las mediciones se utilizó el software libre ImageJ 1.52s (Abramoff *et al.*, 2004). Asimismo, como un índice de la inversión en el sistema vascular se calculó la razón DIV:DIE, como el cociente de ambas medidas. Para este índice los valores mayores que 1 se interpretan como menor inversión y los valores menores a 1 se interpretan como mayor inversión.

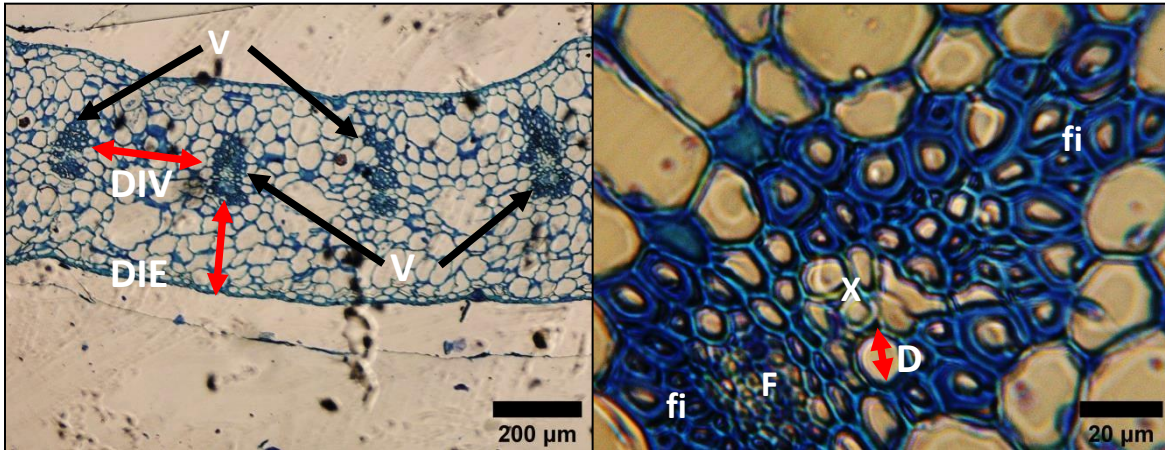


Figura 2.3. Corte transversal de la sección media de una hoja madura de *T. elongata* var. *subimbricata* a 10x y 40x (izquierda a derecha) y ejemplo de las secciones de la anatomía vascular a medir. DIV: distancia entre haces vasculares, DIE=distancia de la venación a la epidermis y DV= diámetro del conducto vascular. Vp y Vs indican venación principal y secundaria, respectivamente. X=xilema, F=floema y fi=fibras.

Cabe mencionar que en el caso del DIE, se siguió la metodología de Males (2017), utilizando la distancia del haz vascular respecto a la epidermis abaxial. La distancia hacia la epidermis adaxial se descartó, ya que en las pruebas exploratorias donde se aplicó la prueba t de Student no se encontraron diferencias significativas entre las distancias del haz vascular respecto a la epidermis abaxial o adaxial de las hojas ($P=0.83 < 0.05$) (Figura 2.4).

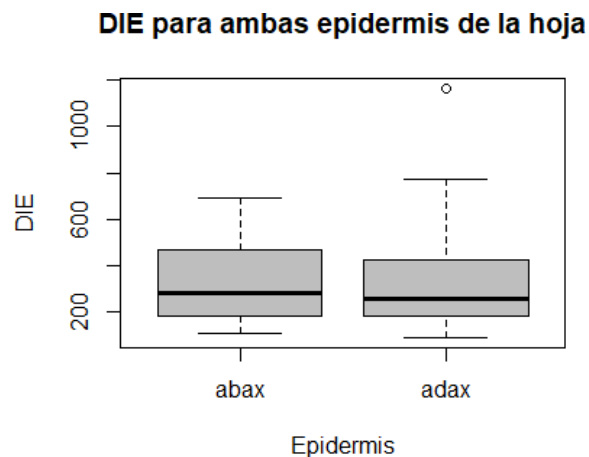


Figura 2.4. Gráfico de caja de la distancia entre el haz vascular y la epidermis para las caras adaxiales (adax) y abaxiales (abax) de las hojas de 16 especies de bromeliáceas.

2.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

De manera previa al análisis estadístico, se probaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad para las variables anatómicas (tamaño, densidad y traslape de tricomas, distancia entre discos, diámetro de las traqueidas y DIV:DIE) y velocidad del transporte hídrico (interno y externo) en los distintos grupos y subgrupos de datos a analizar con las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene. Los datos que no cumplieron con los supuestos, como sucedió con el traslape de tricomas y diámetro de las traqueidas, se transformaron a escala logarítmica y en los casos que no se alcanzó la normalidad con dicha transformación, como en el caso de la velocidad externa del agua, se optó por alternativas no paramétricas.

Para evaluar el transporte hídrico a través de los tricomas, se utilizó la prueba de Wilcoxon (Logan, 2011) para comparar la velocidad de los dos tipos de transporte, interno (teórico vascular) vs. externo (tricomas) en las especies que presentaron ambos tipos de transporte. Así mismo, se utilizó la prueba de t de student para comparar la velocidad del agua al interior del xilema entre las especies que transportaron por la vía externa y las que no.

Para determinar el gradiente de disminución del diámetro de las traqueidas, que puede afectar la conducción del agua al interior de la hoja, se llevaron a cabo ANOVAs, pruebas de Kruskal-Wallis (en casos que no cumplieron los supuestos) y pruebas de comparación múltiple de Tukey para comprar el diámetro del xilema de las tres secciones de la hoja (punta, media y base) de las cuatro especies de bromeliáceas epífitas de distintos grupos y arquitecturas foliares mencionadas en la sección de material vegetal.

Para determinar la influencia de las variables anatómicas sobre la velocidad del agua en el transporte externo, se aplicaron pruebas t de Student que compararon los datos anatómicos de los tricomas y sistema vascular de las especies que transportaron de manera externa y las que no. Así mismo, para determinar correlaciones y la presencia de algún *trade-off* entre las variables anatómicas se calculó el coeficiente Pearson, y se elaboraron diagramas de dispersión para identificar patrones entre las variables.

Para determinar la influencia de las variables anatómicas (variables independientes), sobre el transporte externo (variable dependiente), se llevaron a cabo modelos de regresión múltiple. Las variables anatómicas incluyeron: tamaño, densidad y traslape promedio de los tricomas, así como

distancia entre discos, diámetro promedio de haces vasculares y razón DIV:DVE. Debido a que no se observó linealidad entre las variables independientes y la variable dependiente, ni se encontró el ajuste deseado al normalizar y linealizar las variables (Cuadro 5 del anexo), aunado a la gran cantidad de ceros de la variable dependiente, se decidió optar por un modelo de regresión no lineal. El modelo consistió en un modelo de regresión logística (modelo logit) o GLM binomial con función logit. Por lo tanto, la variable dependiente (velocidad del agua) se transformó a datos binarios, dando el valor de "1" a los registros con velocidad mayor a cero y "0" a los registros con velocidad igual a cero. La prueba de significancia elegida para los modelos consistió en el análisis de devianza basados en chi cuadrada. Se consideraron significativas las variables con $P < 0.05$ (Logan, 2011).

Antes de llevar a cabo el modelo de regresión, se probó la multicolinealidad de las variables independientes con el cálculo de inflación de la varianza (VIF) y la tolerancia. La variable "Traslape de tricomas" resultó altamente correlacionada (con un VIF cercano a 10 y a una tolerancia cercana a cero), por lo que se eliminó del modelo (Cuadros 7 y 8 del anexo). La selección del mejor modelo de regresión logística se llevó a cabo con un algoritmo *stepwise* bidireccional basado en el criterio de información de Akaike (AIC), el cual analizó el modelo inicial con todas las variables sin multicolinealidad (Cuadro 9 del anexo) hasta arrojar el modelo final con AIC más bajo. La bondad de ajuste del modelo se calculó con base en la chi cuadrada de Pearson y la devianza, así como las pseudo R^2 con los índices de McFadden y Veall-Zimmermann y la dispersión estimada vía residuales de Pearson (Iglesias, 2013; Smith y McKenna, 2013).

Todo lo anterior se llevó a cabo en Rstudio 1.3.1073 (Rstudio Team, 2020) con los paquetes MASS 7.3-54 (Venables y Ripley, 2002), Lawstat 3.4 (Gastwirth *et al.*, 2020), STAT 0.1.0 (Bolar, 2019), rms 6.2-0 (Harrell, 2017) y DescTools 0.99.43 (Andri *et al.*, 2021) del software R 4.0.2 (R Core Team, 2020).

CAPÍTULO III

RESULTADOS

3.1. TRANSPORTE HÍDRICO

Como resultado del experimento del transporte hídrico externo con el diodo láser infrarrojo se encontró que, de las 17 especies estudiadas, nueve presentaron transporte de agua entre los tricomas y la velocidad del agua en ellas comprendió un rango de 0.04 a 0.5 mm s⁻¹ (Figura 3.1.a). Entre estas especies ninguna forma tanque, ni tanque somero (Cuadro 2.1).

Las ocho especies que no presentaron transporte de agua entre los tricomas fueron especies con tanque somero y tanque (ver listado completo en el cuadro 2 del anexo). Entre ellas se encontró *T. barchycaulos* (Figuras 3.2.e y 3.2.f). Así mismo, contrario a lo esperado, *T. funckiana* (atmosférica no formadora de tanque somero) no presentó transporte hídrico entre los tricomas (Figuras 3.2.c y 3.2.d).

Al comparar la velocidad del agua en el transporte externo (0.04 a 0.5 mm s⁻¹) contra el flujo interno del agua en el xilema (calculado de manera teórica con el modelo de Hagen-Poiseuille) en las nueve especies de bromeliáceas con transporte hídrico externo (0.003-0.025 mm s⁻¹), se encontraron diferencias significativas ($W = 81$, $P < 0.05$) (Figura 3.1.b y 3.1.c). En el caso de la velocidad del agua al interior del xilema, no se encontraron diferencias significativas entre el grupo con transporte externo (0.003-0.025 mm s⁻¹) y el grupo que no cuenta con esta vía extra de transporte hídrico (0.004-0.018 mm s⁻¹) (Figura 3.1.d). Los valores de las velocidades para cada especie en ambas modalidades de transporte se presentan en los cuadros 1 y 2 del anexo.

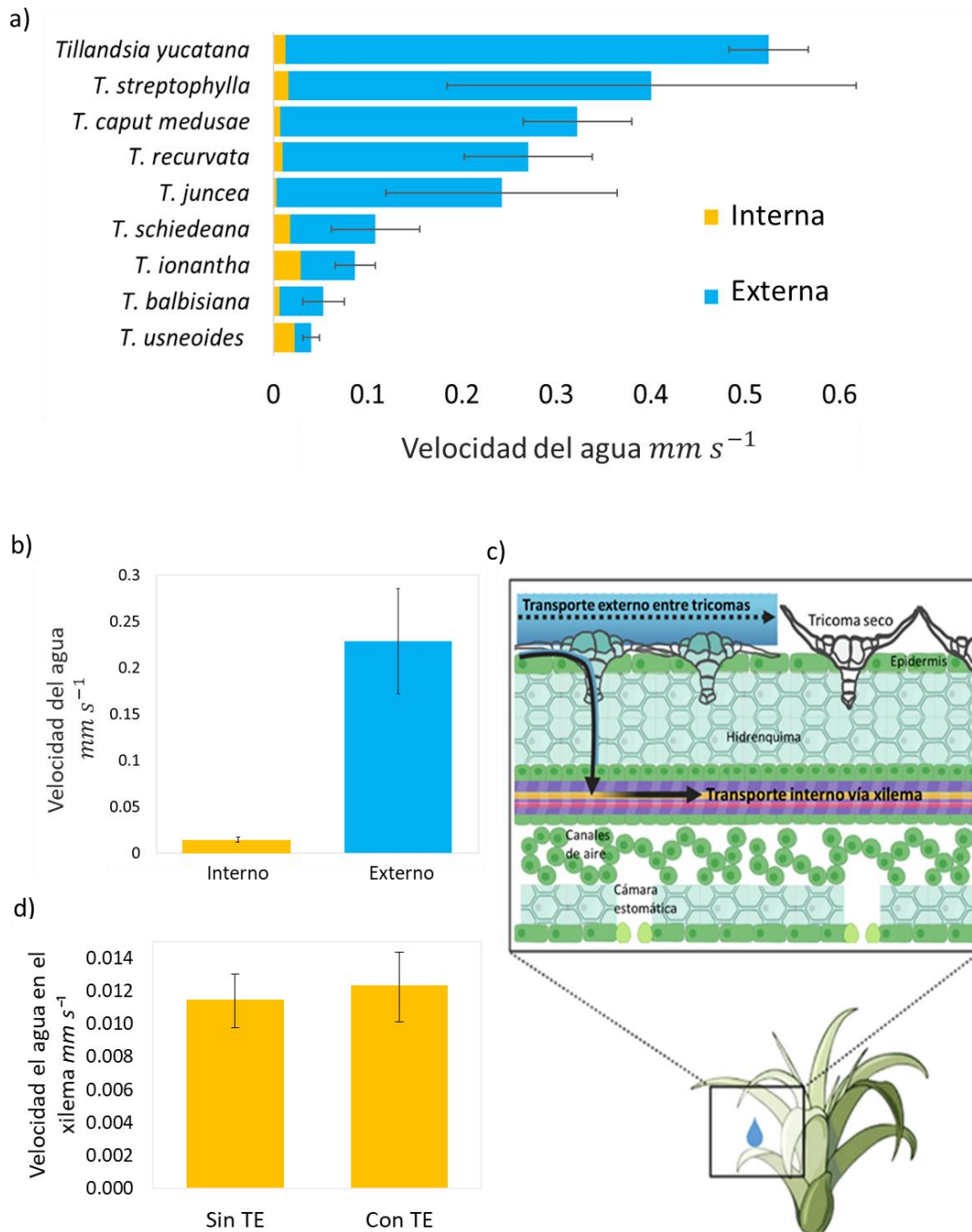


Figura 3.1. (a) Velocidad del agua de dos vías de transporte hídrico, externo e interno, por especie ($N = 3-5$) $\bar{X} \pm EE$; los datos de transporte interno se estimaron con datos de literatura, por lo que no se tienen réplicas. (b) Velocidad promedio del agua en los dos tipos de transporte hídrico de las nueve especies de bromeliáceas que presentaron transporte externo ($n=9$) $\bar{X} \pm EE$. (c) Esquema de los dos tipos de transporte hídrico en Bromeliaceae con ambas vías. (d) Velocidad promedio del agua al interior del xilema en el grupo que presentó transporte externo (TE) ($n=9$) y el grupo que no lo presentó ($n=8$) $\bar{X} \pm EE$.

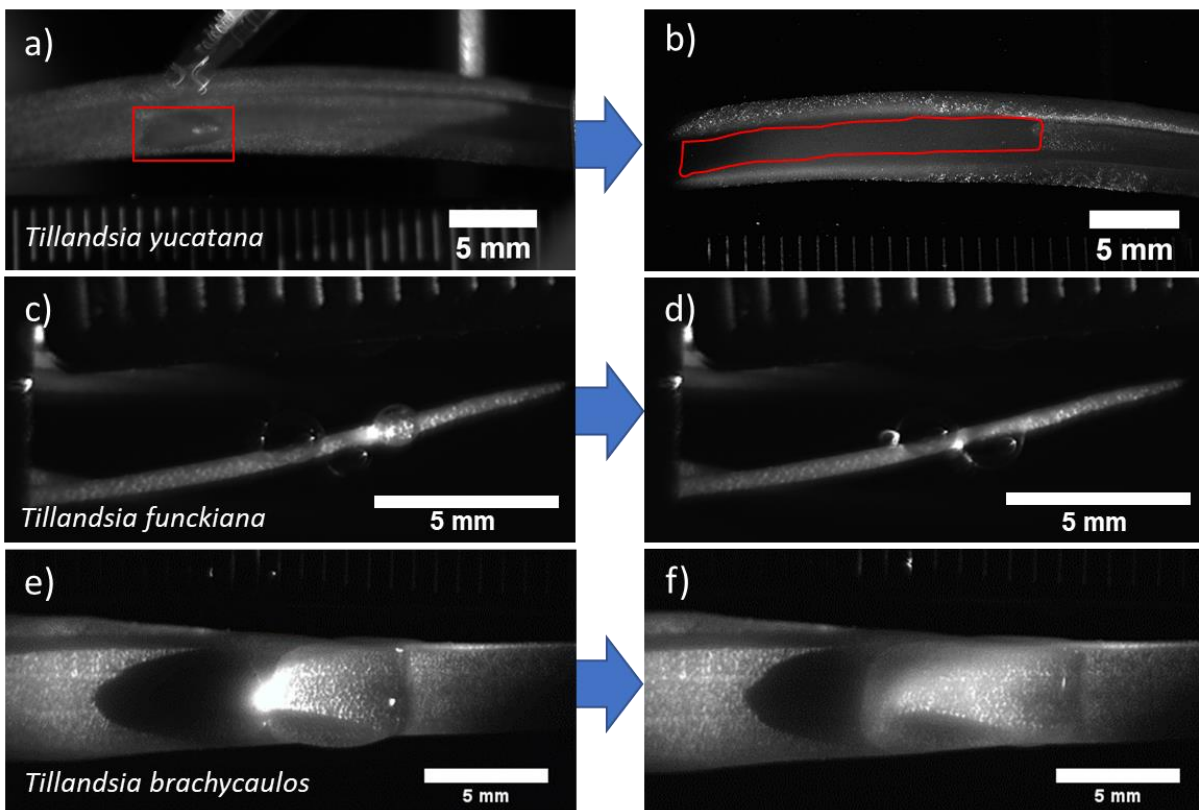


Figura 3.2. Transporte hídrico externo. (a) Imagen 1 (0.01 min) del experimento de transporte hídrico externo en *T. yucatana* y (b) imagen 30 (0.5 min) del mismo experimento con señales de transporte de agua a lo largo de la superficie de la hoja de *T. yucatana*, en rojo se indica el área ocupada por el agua. (c) y (e) Imagen 1 (0.01 min) del experimento de transporte hídrico externo en *T. funckiana* y *T. brachycaulos*, respectivamente y (d) y (f) Imagen 480 (8 min) del mismo experimento sin señales del transporte a lo largo de las hojas en *T. funckiana* y *T. brachycaulos*, respectivamente. La flecha azul vincula la imagen inicial del experimento con la imagen final correspondiente de cada especie.

3.2. CARACTERÍSTICAS DE LOS TRICOMAS Y SISTEMA VASCULAR EN LAS ESPECIES ANALIZADAS

3. 2. 1. Tricomas

Entre las 17 especies de bromeliáceas epífitas, se encontró un amplio rango de densidad de los tricomas (3-80 tricomas por mm²), tamaños (áreas de 0.01-0.1 mm²), traslape (0.2-6) y distancias entre discos (105-284 μ m); por ejemplo, la especie formadora de tanque sin transporte externo, *A. bracteata*, presentó un valor de densidad de tricomas pequeño (3 tricomas por mm²), que representa 5% del valor que presentó la especie con mayor densidad, la no formadora de tanque con transporte externo, *T. balbsiana* (Cuadro 3.1).

En el caso del tamaño de tricomas, las especies sin transporte externo como las tanque somero *T. polystachia* y *T. elongata*, junto con la formadora de tanque *Guzmania* sp, presentaron tricomas pequeños cuyo tamaño (0.01-0.02 mm²) representa un 8 y 16% del área que presentan los tricomas de *T. caput medusae* (0.12 mm²), una especie no formadora de tanque que sí transportó agua entre los tricomas. Así mismo, se encontró un patrón similar en el caso del traslape de los tricomas, ya que *A. bracteata* y *Guzmania* sp., fueron las de menor traslape (0.2 y 0.3) con apenas un 4% del valor que se reportó para *T. caput medusae* (6.6). Los discos de los tricomas de las especies tanque presentaron la mayor distancia entre discos respecto a otras especies *A. bracteata*=284 μ m y *Guzmania* sp=283 μ m) (Cuadro 3.1).

Al comparar el tamaño y el traslape de tricomas del grupo de especies que sí presentaron transporte externo contra en grupo de las que no presentaron, se encontraron diferencias significativas, siendo mayor el tamaño de tricomas (t de Student, P=0.025) y el traslape (t de Student, P=0.00086) en las especies que transportan agua sobre la epidermis (Figura 3.3). Al analizar la densidad de los tricomas y la distancia entre los discos, no se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos de especies. Sin embargo, las que transportaron agua mostraron una tendencia a tener mayores valores de densidad y menor espacio entre discos (Figura 3.3)

Cuadro 3.1. Datos anatómicos de los tricomas en 17 especies de bromeliáceas epífitas. La densidad es el número de tricomas por mm². Los datos son promedio \pm EE, n=3-5. NA=datos faltantes debido a n=1. Los superíndices indican la fuente de los datos: *Este estudio, 1 Cach-Pérez *et al.* 2016 (Datos y micrografías); 2 Stefano *et al.* 2008(Datos); 3 Kim *et al.* 2020; 4 Benz y Martin, 2006 y 5 Pierce, 2007(Micrografías). ++ Datos obtenidos a partir de micrografías, por lo que no se cuenta con réplicas.

Especies	Procedencia	Densidad de tricomas	Tamaño de tricomas (mm ²)	Traslape	Distancia de discos (μ m) ⁺⁺
Con transporte externo					
<i>Tillandsia balbisiiana</i> ¹	Selva baja	80.4 \pm 2.9	0.03 \pm 0.001	2.412	162.3
<i>Tillandsia caput medusae</i> ^{2,5}	Comercial	54.3 \pm 1.6	0.12 \pm NA	6.625	119.9
<i>Tillandsia ionatha</i> ^{2,4}	Comercial	29.5 \pm 1.4	0.09 \pm NA	2.685	178.9
<i>Tillandsia juncea</i> ¹	Sabana	39.1 \pm 4.8	0.04 \pm 0.001	1.564	105.3
<i>Tillandsia recurvata</i> ¹	Selva baja	46.3 \pm 4.3	0.07 \pm 0.007	3.241	214.6
<i>Tillandsia schiedeana</i> ¹	Selva baja	42.3 \pm 3.3	0.06 \pm 0.002	2.538	166
<i>Tillandsia streptophylla</i> ¹	Peten	36.1 \pm 1.7	0.05 \pm 0.002	1.805	250.3
<i>Tillandsia usneoides</i> ^{1,2,3}	Comercial	30.3 \pm 2.9	0.1 \pm NA	2.909	151.8
<i>Tillandsia yucatanana</i> ¹	Selva baja	58.1 \pm 2.5	0.07 \pm 0.002	4.067	141
Sin transporte externo					
<i>Aechmea bracteata</i> ¹	Selva baja	3.8 \pm 0.5	0.08 \pm NA	0.304	284.2
<i>Guzmania sp.</i> [*]	Comercial	12.7 \pm 0.66	0.022 \pm 0.003	0.276	283.4
<i>Tillandsia brachycaulos</i> ¹	Selva baja	40.3 \pm 2.6	0.04 \pm 0.003	1.612	258.6
<i>Tillandsia dasyliiriifolia</i> ¹	Matorral costero	37 \pm 3.5	0.04 \pm 0.0001	1.48	117.9
<i>Tillandsia elongata</i> ¹	Selva baja	26.9 \pm 1.3	0.02 \pm 0.001	0.538	154.8
<i>Tillandsia funckiana</i> [*]	Comercial	43.2 \pm 0.8	0.06 \pm 0.005	2.74	199.6
<i>Tillandsia polystachia</i> [*]	Selva alta	53.6 \pm 2.99	0.014 \pm 0.002	0.774	146.8
<i>Tillandsia utriculata</i> ^{1*}	Matorral costero	24.8 \pm 1.7	0.02 \pm 0.0008	0.591	248.7

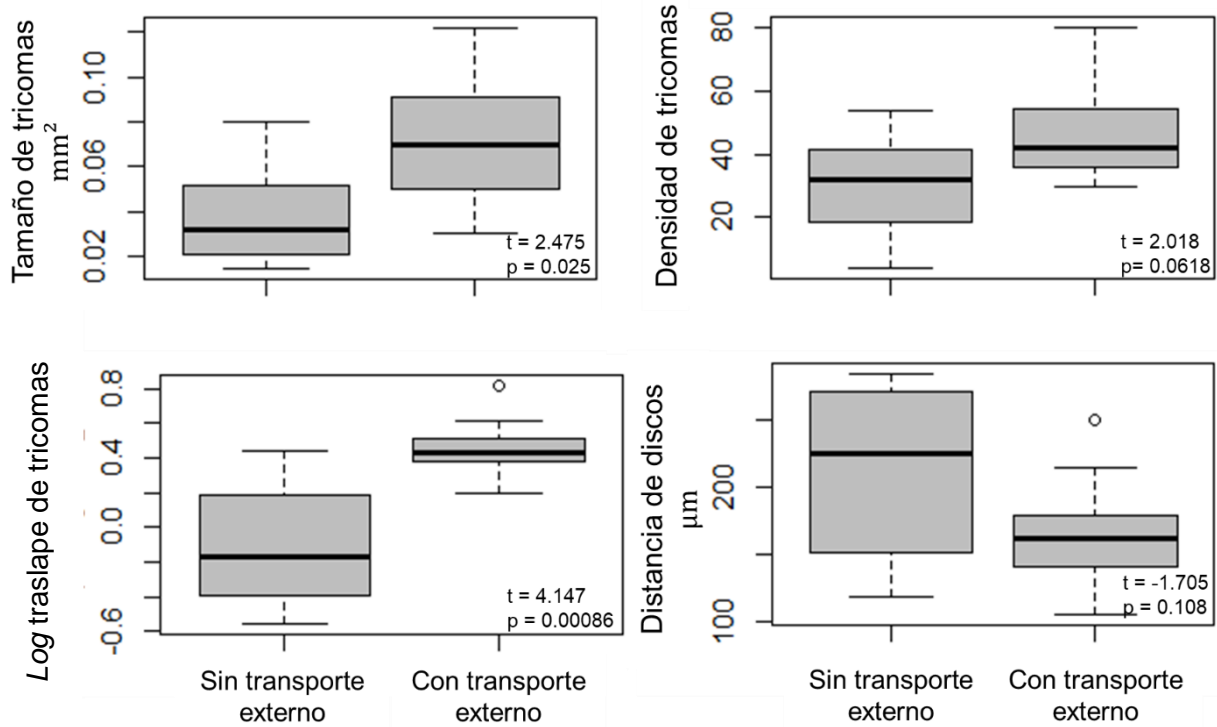


Figura 3.3. Variables anatómicas de los tricomas de las nueve especies con transporte externo contra las ocho que no transportaron el agua sobre la epidermis. Se indican los valores de P y t de las comparaciones de la prueba de t de Student.

3.2.2. Características del sistema vascular

En el caso del sistema vascular, se encontró que algunas especies de tanque y tanque somero sin transporte externo, como *Guzmania monostachia*, *T. elongata* y *T. brachycaulos*, presentaron menor inversión en el sistema vascular que las otras especies de la lista, según sus valores de DIV:DIE (razón de la distancia intervenal y la distancia a la epidermis) (2-1.4). Por el contrario, las especies no formadoras de tanque, que sí presentaron transporte externo, como *T. recurvata* y *T. caput medusae* se encontraron entre las que mostraron mayor inversión junto con especies tanque sin transporte externo como *A. bracteata* y *T. utriculata* (0.04-0.05) (Cuadro 3.2).

Los mayores diámetros de las traqueidas también se encontraron presentes en *A. bracteata* (17.4 µm) y otras especies tanque y tanque somero sin transporte externo. Aunque, en general, las especies no formadoras de tanque con transporte externo presentaron menores diámetros de las traqueidas (como *T. funckiana* = 4.3 µm y *T. recurvata* = 4.8 µm), se encontraron excepciones con diámetros más grandes en *T. streptophylla* y *T. yucatanana* (12 y 9 µm, respectivamente) (Cuadro 3.2). Al comparar los diámetros de las traqueidas y razón DIV:DIE de las especies que

transportaron agua de manera externa contra las que no transportaron, no se encontraron diferencias significativas en (Figura 3.4)

Cuadro 3.2. Diámetro de las traqueidas, distancia intervenal (IVD), distancia del haz vascular a la epidermis (VED) y relación IVD: VED. El superíndice "1" indica los datos de Males (2017). Los datos se presentan como promedio (N= 5 para diez especies de este estudio y N = 50 para ocho especies de Males, 2017a) \pm EE.

Especies	Procedencia	Diámetro de las traqueidas (μ m)	DIV (mm)	DIE (mm)	DIV:DIE
Con transporte externo					
<i>Tillandsia balbisiiana</i>	Selva baja	8.2 \pm 0.46	0.34 \pm 0.029	0.3 \pm 0.049	1.15
<i>Tillandsia caputmedusae</i> ¹	--	6.9 \pm 0.26	0.33 \pm 0.009	0.66 \pm 0.012	0.5
<i>Tillandsia ionantha</i> ¹	--	6.5 \pm 0.22	0.43 \pm 0.006	0.49 \pm 0.007	0.88
<i>Tillandsia juncea</i> ¹	--	5.8 \pm 0.22	0.25 \pm 0.004	0.25 \pm 0.006	1
<i>Tillandsia recurvata</i>	Mérida	4.8 \pm 0.36	0.21 \pm 0.01	0.48 \pm 0.026	0.44
<i>Tillandsia schiedeana</i>	Selva baja	8.5 \pm 0.52	0.24 \pm 0.01	0.31 \pm 0.035	0.76
<i>Tillandsia streptophylla</i>	Manglar	12 \pm 0.83	0.35 \pm 0.022	0.4 \pm 0.029	0.86
<i>Tillandsia usneoides</i>	Colección CICY	5.2 \pm 0.32	0.23 \pm 0.025	0.21 \pm 0.015	1.11
<i>Tillandsia yucatanana</i>	Selva baja	9.2 \pm 0.75	0.44 \pm 0.034	0.49 \pm 0.042	0.9
Sin transporte externo					
<i>Aechmea bracteata</i>	Colección CICY	17.4 \pm 0.66	0.31 \pm 0.04	0.6 \pm 0.036	0.52
<i>Guzmania monostachia</i> ¹ (Proxy de <i>Guzmania</i> sp.)	--	7.7 \pm 0.21	0.29 \pm 0.006	0.13 \pm 0.001	2.23
<i>Tillandsia brachycaulos</i> ¹	--	8.8 \pm 0.21	0.28 \pm 0.004	0.2 \pm 0.002	1.4
<i>Tillandsia dasyliiriifolia</i>	Matorral costero	15.7 \pm 0.97	0.33 \pm 0.025	0.41 \pm 0.020	0.8
<i>Tillandsia elongata</i>	Selva baja	8.9 \pm 0.57	0.29 \pm 0.014	0.19 \pm 0.014	1.5
<i>Tillandsia funckiana</i>	Colección privada	4.3 \pm 0.39	0.1 \pm 0.002	0.08 \pm 0.001	1.25
<i>Tillandsia polystachia</i> ¹	--	7.2 \pm 0.28	0.34 \pm 0.005	0.52 \pm 0.013	0.65
<i>Tillandsia utriculata</i> ¹	--	8.4 \pm 0.24	0.34 \pm 0.005	0.64 \pm 0.014	0.53

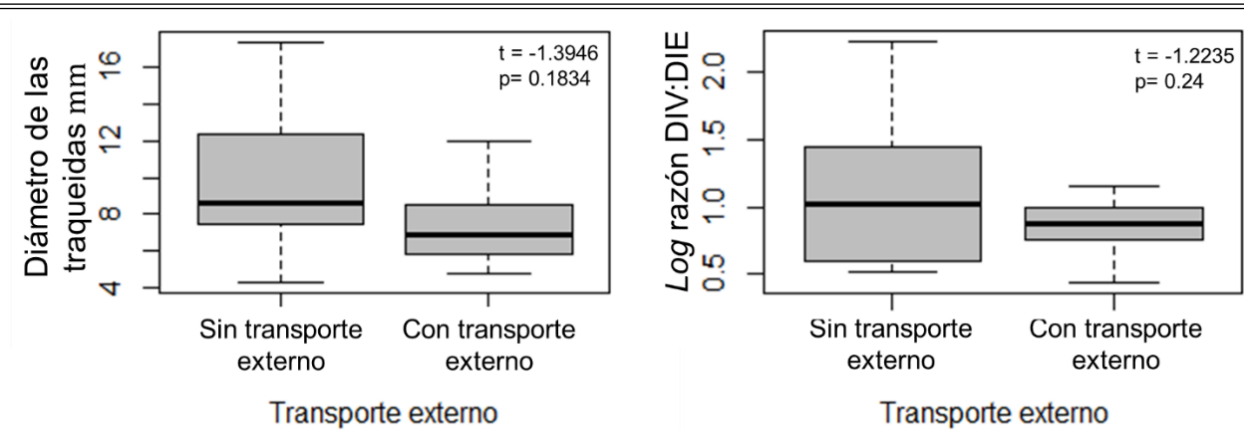


Figura 3.4. Diámetro de las traqueidas y DIV:DIE de las nueve especies con transporte externo contra las ocho que no transportaron el agua sobre la epidermis. Se indican los valores de P y t de las comparaciones de la prueba de t de Student.

3. 2.3. Gradiente vascular a lo largo de la hoja

No se encontró un gradiente de reducción del xilema a lo largo de la hoja. Al comparar entre si el diámetro de las traqueidas en tres secciones de la hoja (base, media y punta) para cuatro especies de bromeliáceas, dos con transporte externo (*T. balbisiana* y *T. usneoides*) y dos sin este tipo de transporte (*A. bracteata* y *T. elongata*), solo se encontraron diferencias significativas en *T. usneoides* ($F=17.153$, $P= 0.003$, que presentó diámetros menores en la sección media, con respecto a la base y la punta. La base y la punta no difirieron entre sí. Aunque *T. balbisiana* también presento diferencias significativas ($F=5.986$, $P=0.037$), la prueba de Tukey solo identificó significancia limítrofe entre las secciones ($P = 0.05$ y 0.06) (Figura 3.5). Cabe señalar que los diámetros de las traqueidas en las cuatro especies son diferentes entre sí (Kruskal-Wallis, $P<0.05$) (Figura 3.5).

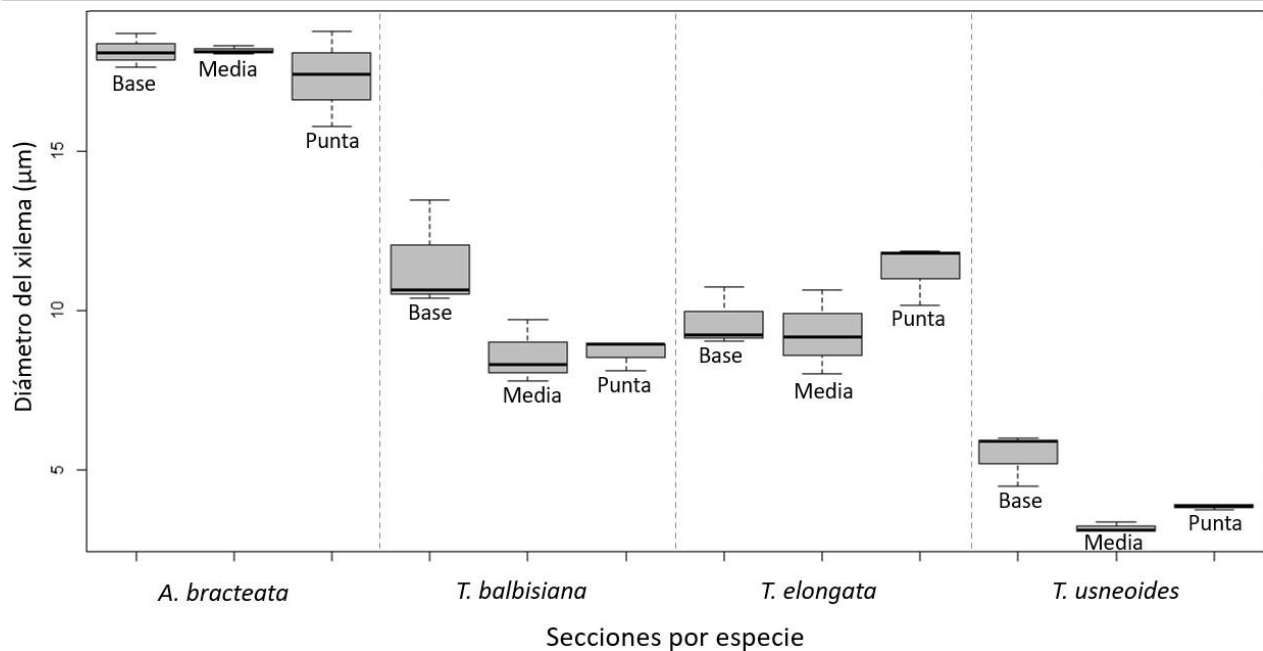


Figura 3.5. Diámetro de las traqueidas en las tres secciones de la hoja: base, media y punta, de cuatro especies de bromeliáceas epífitas. Los valores promedio con error estándar se presentan en el anexo.

3.3.4. CORRELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES ANATÓMICAS DE LAS ESPECIES ANALIZADAS

Los diagramas de dispersión y la correlación de Pearson (Figura 3.6 y Cuadro 3.3), no sugieren la relación lineal negativa esperada entre las variables relativas a los tricomas y el diámetro de las traqueidas e inversión en el sistema vascular (DIV:DIE). Por lo tanto, no se encontró el *trade-off* esperado entre la inversión en tricomas y el sistema vascular.

Las únicas relaciones significativas positivas se encontraron entre el traslape de los tricomas y la densidad y tamaño de éstos. También se encontró relación significativa negativa entre el traslape de tricomas y la distancia entre discos (Figura 3.6 y Cuadro 3.3).

Cuadro 3.3. Coeficiente de correlación de Pearson entre seis variables anatómicas de 17 especies de bromeliáceas epífitas. Los valores con * ** indican relaciones significativas con $P < 0.05$.

	<i>Log</i> diámetro de las tarqueidas	DIV:DIE	Densidad de tricomas	Tamaño de tricomas	<i>Log</i> traslape de tricomas	Distancia entre discos
<i>Log</i> diámetro de las tarqueidas		0.62996	0.25749	0.46181	0.0781	0.3663
DIV:DIE	-0.126		0.44853	0.10393	0.1683	0.37512
Densidad de tricomas	-0.2908	-0.197		0.98926	0.0026**	0.02024
Tamaño de tricomas	-0.1914	-0.40808	0.00353		0.00784**	0.50869
<i>Log</i> traslape de tricomas	-0.4387	-0.35011	0.68146	0.6207		0.02304*
Distancia entre discos	0.23386	0.22971	-0.55685	-0.1722	-0.5471	

3.5. CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS RELACIONADAS CON EL TRANSPORTE HÍDRICO EXTERNO

En el modelo de regresión logística del transporte hídrico externo seleccionado por el algoritmo *stepwise* incluyó solo a las variables de densidad y tamaño de tricomas. Ambas variables resultaron significativas a un alfa de 0.05 y relacionadas positivamente con el transporte externo (Cuadro 3.4).

El parámetro de dispersión estimada resultó menor que 1 (Residuales de Pearson, 0.77), por lo que no se presentan problemas de sobre dispersión. Así mismo, según las pseudo R², dependiendo del índice, el modelo explica más del 50% de la variación del transporte externo (McFadden, 0.52 y Veall-Zimmermann, 0.72) y los estadísticos de bondad de ajuste del modelo basados en la devianza (0.67) y Chi² de Pearson (0.70) sugieren un buen ajuste.

Cuadro 3.4. Modelo de regresión logística del transporte hídrico externo con las variables independientes seleccionadas por el algoritmo *stepwise* bidireccional. Modelo basado en chi cuadrada como prueba de significancia. Devianza nula: 23.508 con 16 grados de libertad, devianza residual:11.168 con 14 grados de libertad, AIC:17.168 y score del número de iteraciones de Fisher: 6.

	Coeficientes	EE	Devianza	Pr(>Chi)
Intercepto	-9.068	4.366		
Densidad de tricomas	0.120	0.069	4.239	0.0395*
Tamaño de tricomas	86.733	43.99	8.101	0.0044**

CAPITULO IV

DISCUSIÓN

4.1. TRANSPORTE HÍDRICO

Las especies incluidas en este estudio comprendieron tres géneros de Bromeliaceae: *Aechmea* Ruiz & Pav., *Guzmania* Ruiz & Pav. y *Tillandsia* L. Si bien, la mayoría de las especies corresponden al último género, se abarcó un amplio rango de la diversidad de formas que se presentan entre las epífitas de dicha familia con el fin de caracterizar la variedad de estrategias que han desarrollado para el transporte hídrico.

De acuerdo con los resultados obtenidos se confirma la hipótesis de la presencia de transporte externo en las especies no formadoras de tanque (*T. yucatanana*, *T. caput medusae*, *T. streptophylla*, *T. balbisiana*, *T. recurvata*, *T. usneoides*, *T. juncea*, *T. schiedeana* y *T. ionantha*) y la ausencia de este tipo de transporte en las especies formadoras de tanque y tanque somero (*T. brachycaulos*, *T. elongata* var. *subimbricata*, *T. polystachia*, *A. bracteata*, *Guzmania* sp., *T. dasyliriifolia* y *T. utriculata*). Estos resultados coinciden con los experimentos de Herppich *et al.* (2017), y de Ha *et al.*, 2021, quienes observaron movimiento del agua entre los tricomas en las especies no formadoras de tanque *T. usneoides* y *T. ionantha*.

Por otra parte, también se confirmó la hipótesis de que el transporte hídrico externo sería más veloz que el interno, ya que se encontraron diferencias significativas entre ambos modos de transporte. Así mismo, la velocidad del agua al interior del xilema no resultó menor en las especies con la vía adicional de transporte externo respecto a las que solo cuentan con transporte interno. Según estos resultados el grupo de especies con transporte hídrico externo requieren de ambas vías, pero el transporte externo debe ser ventajoso para aprovechar los pequeños pulsos de precipitación (Reyes y Griffiths, 2009), ya que la rápida dispersión del agua en la superficie por el transporte externo ayuda a agilizar la absorción en los tricomas de la superficie, disminuyendo la cantidad de agua que pudiera perderse por evaporación, algo que no sucede en las especies tanque donde el agua es más susceptible a perderse por este fenómeno mientras se encuentra almacenada en dicho tanque (Mejia-Chang *et al.*, 2021). Aunado a lo anterior, existe la ventaja de que, a diferencia del xilema, el transporte externo entre tricomas es multidireccional y no depende de la generación de gradientes de potencial hídrico como sucede en el transporte interno.

Por otra parte, el modelo teórico utilizado para calcular el transporte interno no considera la resistencia impuesta por las membranas que separan a las traqueidas del xilema, por lo que podría existir una sobre estimación de la velocidad interna real que ocurre en las especies estudiadas (Nobel, 2009). A pesar de esto, la falta de diferencias significativas al comparar el tamaño de las traqueidas a lo largo de la hoja nos indica que, en el caso de las bromeliáceas epífitas, el uso de las medidas del diámetro de las traqueidas de la sección media en el modelo de Hagen-Poiseuille es representativo de las dimensiones de las traqueidas a lo largo de toda la hoja. Así mismo, esta homogeneidad en el tamaño de las traqueidas sugiere que el movimiento del agua al interior de la hoja depende del gradiente generado por las diferencias en el potencial hídrico sin la participación de algún gradiente de naturaleza anatómica.

4.2. RELACIÓN DEL TRANSPORTE EXTERNO CON LA ANATOMÍA DE LOS TRICOMAS Y EL SISTEMA VASCULAR

4.2.1. Tricomas

En el experimento de transporte externo se encontraron casos de especies que no transportaron el agua, aunque los tricomas presentan características anatómicas similares a las de especies que sí transportaron el agua de manera externa. Este fue el caso de *Tillandsia brachycaulos* y *Tillandsia funckiana* que, a pesar de un tamaño, densidad y grado de traslape de los tricomas que permitirían el transporte externo del agua entre tricomas, no lo hicieron (Figura 3.2). Ambas especies comparten una característica anatómica única; presentan un grado de rugosidad en el ala de los tricomas que impide la formación de los canales observados en especies que sí transportan agua entre los tricomas; esta característica se puede observar en las micrografías de *T. funckiana* (figura 1 del anexo) y *T. brachycaulos* (Cach-Pérez *et al.*, 2017). Así mismo, otras especies no analizadas en este trabajo, como *Tillandsia fasciculata* Sw, *Tillandsia anceps* Lodd., *Tillandsia tricolor* Schldtl. & Cham., *Tillandsia foliosa* Martens & Galeotti, *Tillandsia xerographica* Rohw., *Tillandsia remota* Wittm. y *Tillandsia punctulata* Schldtl. & Cham., presentan esta característica (Mosti *et al.*, 2005; Cach-Pérez *et al.*, 2016). Es probable que en estas especie tampoco se presente el transporte hídrico externo asociado a la falta de canales debido a su rugosidad asociada en el ala del tricoma. Según las filogenias de Granados-Aguilar (2016), y Pinzón *et al.* (2016), la rugosidad del tricoma con ausencia de canales, parece una característica que evolutivamente surgió varias veces de manera independiente dentro del género *Tillandsia*, ya que no se presenta entre especies cercanamente emparentadas. No obstante, no se cuenta con la filogenia completa del género, ni se conoce en que otras especies se presentan dichas

características del ala del tricoma y si también carecen de transporte hídrico externo.

En el futuro podrían realizarse estudios para comprobar si la falta de canales con la rugosidad asociada se relaciona con la falta de transporte hídrico externo. También, surge la interrogante de cuál podría ser la función de esta característica que promovió su reaparición a lo largo de la evolución del género. De manera somera, la función de la rugosidad y la falta de canales asociada podría permitir que la gota de agua permanezca más tiempo sobre la hoja, ya que evitan la ruptura de la tensión superficial del agua. Para las especies que presentan estas características en los tricomas podría ser importante retener el agua en secciones pequeñas y no distribuirla uniformemente mediante los tricomas, ya que este no es un sistema regulado que controle la dirección del agua.

Así mismo, aunque la rugosidad y falta de canales podrían tener la función de condensar el agua, es probable que esto ocurra con cierta dificultad en las dos especies mencionadas, ya que Pierce (2007), al estudiar la condensación en el ala ligeramente rugosa con canales de *Tillandsia albida* Mez & Purpus, encontró que es más difícil y requiere mayor tiempo condensar agua en las alas rugosas que superficies más suaves y lisas como las de la cutícula. Así mismo, la superficie de la cutícula puede alcanzar temperaturas por debajo de la temperatura del aire, mientras que, en las alas de los tricomas levantados, se deberían presentar temperaturas más similares a las del aire al ser células muertas con el interior vacío. En este caso la condensación en la cutícula, más fría que el ala, se vería favorecida (Andrade, 2003; Reyes-García *et al.*, 2012; Chávez-Sahagún *et al.*, 2019). En general, no se ha observado que la condensación ocurra fácilmente sobre el ala del tricoma, aunque esto, probablemente, no es imposible. Así, en general, se ha planteado que las alas de los tricomas son móviles en las especies con densos indumentos de tricomas, para permitir la condensación en la cutícula (Pierce, 2007). Todo lo anterior deja claro que aún quedan preguntas por responder respecto a la función de los tricomas en la conducción externa del agua y su relación con otras características como la textura de los tricomas.

En cuanto al transporte hídrico externo y las otras variables de los tricomas analizadas, se encontró variabilidad en el tamaño de los tricomas, su densidad y traslape, así como en la distancia entre discos. Por ejemplo, los tamaños de los tricomas de las especies analizadas abarcaron tamaños desde los 0.02 a 0.12 mm² y se encontraron de 5 a 80 tricomas por mm². Esto es congruente con las distintas estrategias para el manejo del agua que se reportan para las bromeliáceas epífitas en función de los distintos ecosistemas y microambientes que habitan (Stefano *et al.*, 2008; Reyes-García *et al.*, 2012; Chávez-Sahagún *et al.*, 2019).

Las pruebas de contrastes de medias y el modelo de regresión lineal múltiple confirmaron la relación esperada del tamaño y densidad de los tricomas con la capacidad de transporte entre ellos. Además, la correlación de Pearson significativa entre el tamaño del tricoma y el traslape resultó mayor que entre la densidad y el traslape, lo que sugiere que el tamaño es un componente importante del traslape de tricomas. No obstante, la participación de ambas variables es importante para asegurar un grado de traslape que promueva la continuidad en el camino que forman los tricomas para el paso de la película de agua. Dicho lo anterior, se confirma la hipótesis planteada al inicio en lo que respecta a la densidad, tamaño y traslape de los tricomas.

Respecto a los resultados de Herppich *et al.* (2017) y Ha *et al.* (2021), al analizar los tricomas de *T. usneoides*, se confirma que la presencia de transporte hídrico externo encontrado por dichos autores y los de este estudio se relacionan con el gran tamaño de los tricomas y su traslape.

4.2.2. Sistema vascular

En los análisis estadísticos realizados, no se confirmó la relación negativa indirecta que se esperaba entre el transporte externo y el diámetro de las traqueidas o inversión en el sistema vascular, ni entre la inversión en tricomas y ambas variables del sistema vascular. Esta falta de relación negativa podría estar relacionada con la presencia de distintas estrategias de inversión vascular y el uso del agua entre las especies. Podría ser posible la coexistencia de características que favorecen el transporte externo como el traslape de los tricomas y tricomas grandes con sistemas vasculares que permiten un flujo eficiente, como en el caso de *Tillandsia streptophylla*. Esta especie, que se distribuye únicamente en sitios inundables (Ramírez *et al.*, 2004), podría presentar ambas características al encontrarse bajo demandas evaporativas bajas. Por el contrario, también se podrían encontrar especies que invierten más en el sistema vascular, pero con xilemas angostos más seguros, y a pesar de esto, les es posible prescindir de un denso indumento de tricomas que les facilite una vía alterna de transporte hídrico, como en el caso de *Guzmania* sp. Las especies de este género suelen ser C₃ (aunque algunas pueden ser facultativas CAM), por lo que no presentan el sistema de ahorro de agua que la vía CAM ofrece al resto de especies analizadas, lo que da congruencia al requerimiento de sistema vascular seguro ante la cavitación (North *et al.*, 2015).

Cabe señalar que existen una serie de características anatómicas del interior de la hoja que podrían equilibrar la falta de conductos o diámetros pequeños de las traqueidas. Como se observó en las microscopías de este trabajo y según reportes de otros estudios como el de Benzing (2000), Males (2017), y North *et al.* (2015), existen estructuras en los tejidos de las hojas de las

Bromeliaceae que varían entre las especies, como la presencia de fibras (grandes cantidades en algunos casos), inclusiones celulares como rafidios de oxalato de calcio y espacios de aire en el mesófilo que podrían contribuir al transporte hídrico interno. Esto, ya sea como vías alternas para el movimiento del agua o, por ejemplo, en el caso de los rafidios, como osmolitos para establecer gradientes que promuevan el establecimiento de gradientes para el movimiento (Sack y Scoffoni, 2013).

Otro dato no considerado en este estudio, fue la longitud de las traqueidas y los diámetros de las punteaduras de las barreras que separan a una célula de la siguiente (Nobel, 2009). Esta característica también podría variar entre especies y ser otro factor importante en las combinaciones de rasgos anatómicos que permiten a estas plantas mantener un transporte y balance hídrico adecuado para su supervivencia. Así mismo otros factores que varían entre las especies y que tienen un papel importante en el balance hídrico incluyen la presencia/ausencia de tanque, la capacidad de control estomático y la cantidad de hidrénquima (Males, 2017a). Por lo tanto, para comprender mejor la interacción de los factores anatómicos y fisiológicos de la hoja y el transporte hídrico externo e internos, se podrían llevar a cabo estudios anatómicos-fisiológicos más profundos, así como estudios que aumenten la cantidad de especies de bromeliáceas epífitas en el tamaño de muestra para tener una representación más fiable de la variabilidad que se presenta entre las epífitas de esta familia.

Por otra parte, la falta de diferencias significativas del diámetro de las traqueidas de las tres secciones de las hojas de cuatro especies, una formadora de tanque (*A. bracteata*), una de tanque somero (*T. elongata*) y dos no formadoras de tanque (*T. balbisiana* y *T. usneoides*), indica la falta de gradientes de reducción base-punta a lo largo del xilema. Esto difiere de lo encontrado en otras plantas vasculares, incluidas monocotiledóneas como los pastos, donde se observa la reducción en el diámetro del xilema axial conforme se avanza hacia la punta de la hoja (Sack y Scoffoni, 2013). Esta falta de gradiente se puede relacionar con la necesidad de mayor soporte mecánico a lo largo de toda la hoja de las bromelias epífitas. Por ejemplo, en los pastos, la reducción del diámetro de los conductos vasculares favorece el doblamiento de la punta de la hoja para lograr una posición que intercepte los rayos solares con mayor facilidad (Sack y Scoffoni, 2013). El dosel vegetal que habitan las epífitas, se encuentra más expuesto a la radiación, por lo que esta característica no sería necesaria, mientras que sí podrían requerir soporte mecánico para reducir la probabilidad de daños a la hoja. También la presencia de un gradiente de reducción en el diámetro del xilema podría ser innecesario debido a que estas especies presentan la vía CAM y sistemas de almacén de agua interno o externo, lo que las hace

menos vulnerables a la cavitación (Males y Griffiths, 2018). Así, para estas plantas un xilema uniforme no representa un riesgo, ni genera problemas para mantener la presión al interior del xilema en equilibrio (Sack y Scoffoni, 2013).

CAPITULO V

CONCLUSIÓN

5. Conclusiones

Los resultados muestran que el transporte hídrico externo entre los tricomas de las bromeliáceas epífitas ocurre rutinariamente en las especies no formadoras de tanque y es una vía de transporte hídrico más veloz que el xilema. Esta vía externa no reemplaza la conducción del xilema, sino que parece ofrecer una ventaja extra para poder aprovechar pulsos de precipitación. El transporte externo se relacionó con el tamaño y la densidad de los tricomas, asimismo, la forma y presencia de canales en el ala también podría jugar un papel importante para facilitar el movimiento del agua.

La falta de correlación significativa entre la inversión en los tricomas y el sistema vascular, sugiere que el *trade-off* esperado entre ambas características no es una estrategia generalizada en las bromeliáceas epífitas estudiadas. En algunos casos, estas plantas pueden invertir en un sistema vascular con mayor proporción de haces vasculares o traqueidas de mayor diámetro, a la vez que invierten en gran cantidad de tricomas o tricomas de gran tamaño. Además, es probable que el grado de inversión en los tricomas y en el sistema vascular de cada especie de bromeliácea epífita, sea el resultado de las interacciones con otras características anatómicas y fisiológicas para mantener el balance hídrico como, por ejemplo, la cantidad de hidrénquima, la regulación estomática o la presencia de osmolitos al interior de la hoja.

Aunque el movimiento externo del agua a lo largo de la hoja en las bromeliáceas epífitas no formadoras de tanque se ha constatado, la importancia que tienen las dos vías de transporte hídrico es un tema con perspectivas para futuros estudios. Llevando a cabo el perfeccionamiento de las técnicas ópticas en el infrarrojo cercano se presenta la posibilidad de estudiar más a fondo las dinámicas de los flujos del agua en la hoja de manera experimental, no destructiva y en tiempo real.

BIBLIOGRAFÍA

- Abramoff, M.D., Magalhaes, P.J. y Ram, S.J. (2004). "Image Processing with ImageJ". *Biophotonics International*, 11(7): 36-42.
- Andrade, J. L. (2003). Dew deposition on epiphytic bromeliad leaves: an important event in a Mexican tropical dry deciduous forest. *Journal of Tropical Ecology*, 19(5): 479-488.
- Andri et mult. al. S (2021). DescTools: Tools for Descriptive Statistics. R package version 0.99.43, <https://cran.r-project.org/package=DescTools>.
- Benz, B. W. y Martin, C. E. (2006). Foliar trichomes, boundary layers, and gas exchange in 12 species of epiphytic *Tillandsia* (Bromeliaceae). *Journal of plant physiology*, 163(6): 648-656.
- Benzing, D. H. (1976). Bromeliad trichomes: structure, function, and ecological significance. *Selbyana*, 1(4): 330-348.
- Benzing, D. H. (2000). Bromeliaceae: Profile of an adaptative radiation. Cambridge University Press. Cambridge, England.
- Benzing, D. H. y Renfrow, A. (1971). Significance of the patterns of CO₂ exchange to the ecology and phylogeny of the Tillandsioideae (Bromeliaceae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 98(0): 322-327.
- Benzing, D. H., Henderson, K., Kessel, B., y Sulak, J. (1976). The absorptive capacities of bromeliad trichomes. *American Journal of Botany*, 63(7): 1009-1014.
- Benzing, D. H., y Burt, K. M. (1970). Foliar permeability among twenty species of the Bromeliaceae. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 97(5):269-279.
- Bolar, K. (2019). STAT: interactive document for working with basic statistical analysis. R package version 0.1. 0.
- Brodribb, T. J. (2014). Xylem Function and Evolution. En: eLS, John Wiley & Sons, Chichester. 8 p.
- Brodribb, T. J., Feild, T. S., y Jordan, G. J. (2007). Leaf maximum photosynthetic rate and

-
- venation are linked by hydraulics. *Plant physiology*, 144(4): 1890-1898.
- Cach-Pérez, M. J. (2013). Bromeliáceas epífitas de la Península de Yucatán como indicadoras de los posibles efectos del cambio climático regional (Tesis doctoral, Centro de Investigación Científica de Yucatán).
- Cach-Pérez, M. J., Andrade, J. L., Cetzal-Ix, W., y Reyes-García, C. (2016). Environmental influence on the inter-and intraspecific variation in the density and morphology of stomata and trichomes of epiphytic bromeliads of the Yucatan Peninsula. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181(3): 441-458.
- Cach-Pérez, M. J., Andrade, J. L., y Reyes-García, C. (2014). La susceptibilidad de las bromeliáceas epífitas al cambio climático. *Botanical Sciences*, 92(2): 157-168.
- Cao, Q., Zhegalova, N. G., Wang, S. T., Akers, W. J., y Berezin, M. Y. (2013). Multispectral imaging in the extended near-infrared window based on endogenous chromophores. *Journal of biomedical optics*, 18(10):101318.1-101318.7.
- Carlquist, S. (2012). How wood evolves: a new synthesis. *Botany*, 90(10): 901-940.
- Chávez-Sahagún, E., Andrade, J. L., Zotz, G., y Reyes-García, C. (2019). Dew can prolong photosynthesis and water status during drought in some epiphytic bromeliads from a seasonally dry tropical forest. *Tropical Conservation Science*, 12: 1-11.
- Fahlgren, N., Gehan, M. A., y Baxter, I. (2015). Lights, camera, action: high-throughput plant phenotyping is ready for a close-up. *Current opinion in plant biology*, 24: 93-99.
- Freschi, L., Takahashi, C. A., Cambui, C. A., Semprebom, T. R., Cruz, A. B., Mito, P. T. y Mercier, H. (2010). Specific leaf areas of the tank bromeliad *Guzmania monostachia* perform distinct functions in response to water shortage. *Journal of Plant Physiology*, 167(7): 526-533.
- García-Gutiérrez, E., Ortega-Escalona, F. y Angeles, G. (2020). A novel, rapid technique for clearing leaf tissues. *Applications in Plant Sciences*, 8(9): e11391.
- Garrod, R. P., Harris, L. G., Schofield, W. C. E., McGettrick, J., Ward, L. J., Teare, D. O. H., y Badyal, J. P. S. (2007). Mimicking a *Stenocara* Beetle's back for microcondensation using plasmachemical patterned superhydrophobic- superhydrophilic surfaces. *Langmuir*,

23(2): 689-693.

Gastwirth JL, Gel YR, Wallace Hui WL, Lyubchich V, Miao W, Noguchi K. lawstat: Tools for Biostatistics, Public Policy, and Law. R package version 3.1 edition. 2017.

Givnish, T. J., Barfuss, M. H., Van Ee, B., Riina, R., Schulte, K., Horres, R. y Winter, K. (2014). Adaptive radiation, correlated and contingent evolution, and net species diversification in Bromeliaceae. *Molecular phylogenetics and evolution*, 71: 55-78.

Gleason, S. M., Westoby, M., Jansen, S., Choat, B., Hacke, U. G., Pratt, R. B. y Cochard, H. (2015). Weak tradeoff between xylem safety and xylem-specific hydraulic efficiency across the world's woody plant species. *New Phytologist*, 209(1): 123-136.

Granados-Aguilar, X. C. (2016). Posición filogenética de las especies de *Tillandsia* L. (Bromeliaceae, Poales) mexicanas. (Tesis doctoral, Universidad Nacional Autónoma de México).

Ha, N., Park, J., Park, S. H., Seo, E., Lim, J. H. y Lee, S. J. (2021). Domino-like water transport on *Tillandsia* through flexible trichome wings. *New Phytologist*. 231:1906-1922.

Harrell, F. E. (2017). Regression modeling strategies. *Bios*, 330(2018), 14.

Herppich, W. B., Martin, C. E., Tötze, C., Manke, I., y Kardjilov, N. (2019). External water transport is more important than vascular transport in the extreme atmospheric epiphyte *Tillandsia usneoides* (Spanish moss). *Plant, cell & environment*, 42(5):1645-1656.

Herrmann, R., y Onkelinx, C. (1986). Quantities and units in clinical chemistry: Nebulizer and flame properties in flame emission and absorption spectrometry (Recommendations 1986). *Pure and Applied Chemistry*, 58(12): 1737-1742.

Hunsmann, S., Wunderle, K., Wagner, S., Rascher, U., Schurr, U., y Ebert, V. (2008). Absolute, high resolution water transpiration rate measurements on single plant leaves via tunable diode laser absorption spectroscopy (TDLAS) at 1.37 μm . *Applied Physics B*, 92(3): 393-401.

Iglesias, T. (2013). Métodos de bondad de ajuste en Regresión logística. Universidad de Granada. 3-73 p.

-
-
- Jacquemoud, S., y Baret, F. (1990). PROSPECT: A model of leaf optical properties spectra. *Remote sensing of environment*, 34(2): 75-91.
- Jacquemoud, S., y Ustin, L. S. (2008). Modeling leaf optical properties. *Photobiological Sciences Online*. Disponible en línea: http://photobiology.info/Jacq_Ustin.html (Con acceso: 01/05/2020)
- Kenrick P. y Crane P.R. (1997). The origin and early evolution of plants on land. *Nature*, 389: 33–39.
- Kenrick, P. y Strullu-Derrien, C. (2014). The origin and early evolution of roots. *Plant physiology*, 166(2): 570-580.
- Kidron, G. J. (2005). Angle and aspect dependent dew and fog precipitation in the Negev desert. *Journal of Hydrology*, 301 (1-4):66-74.
- Kim, D. M., Zhang, H., Zhou, H., Du, T., Wu, Q., Mockler, T. C. y Berezin, M. Y. (2015). Highly sensitive image-derived indices of water-stressed plants using hyperspectral imaging in SWIR and histogram analysis. *Scientific reports*, 5: 15919.
- Koçillari, L., Olson, M. E., Suweis, S., Rocha, R. P., Lovison, A., Cardin, F. y Maritan, A. (2021). The Widened Pipe Model of plant hydraulic evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(22).
- Ladino, G., Ospina-Bautista, F., Estévez Varón, J., Jerabkova, L., y Kratina, P. (2019). Ecosystem services provided by bromeliad plants: A systematic review. *Ecology and Evolution*, 9:7360-7372.
- Lambers, H., Chapin III, F. S. y Pons, T. L. (2008). *Plant physiological ecology*. Springer Science & Business Media. New York, USA. 623 p.
- Laube, S. y Zotz, G. (2003). Which abiotic factors limit vegetative growth in a vascular epiphyte?. *Functional Ecology*, 17(5): 598-604.
- Leroy, C., Gril, E., Ouali, L. S., Coste, S., Gérard, B., Maillard, P. y Stahl, C. (2019). Water and nutrient uptake capacity of leaf-absorbing trichomes vs. roots in epiphytic tank bromeliads. *Environmental and experimental botany*, 163: 112-123.

-
-
- Logan, M. (2011). Biostatistical design and analysis using R: a practical guide. John Wiley & Sons. UK. 577 p.
- Lubnow, M., Jeffries, J. B., Dreier, T., y Schulz, C. (2018). Water film thickness imaging based on time-multiplexed near-infrared absorption. *Optics express*, 26(16): 20902-20912.
- Males, J. (2017a). Structure-function relationships in the water-use strategies and ecological diversity of the Bromeliaceae (Doctoral dissertation, University of Cambridge).
- Males, J. (2017b). Secrets of succulence. *Journal of Experimental Botany*, 68(9): 2121-2134.
- Males, J., y Griffiths, H. (2017). Stomatal biology of CAM plants. *Plant Physiology*, 174(2): 550-560.
- Males, J., y Griffiths, H. (2018). Economic and hydraulic divergences underpin ecological differentiation in the Bromeliaceae. *Plant, Cell & Environment*, 41(1):64-78.
- Martin, C. E. (1994). Physiological ecology of the Bromeliaceae. *The Botanical Review*, 60(1): 1-82.
- Martin, C. E., Rux, G., y Herppich, W. B. (2013). Responses of epidermal cell turgor pressure and photosynthetic activity of leaves of the atmospheric epiphyte *Tillandsia usneoides* (Bromeliaceae) after exposure to high humidity. *Journal of plant physiology*, 170(1): 70-73.
- Martorell, C. y Ezcurra, E. (2007). The narrow-leaf syndrome: A functional and evolutionary approach to the form of fog-harvesting rosette plants. *Oecologia*, 151:561-573.
- Medina, E. (1974). Dark CO₂ fixation, habitat preference and evolution within the Bromeliaceae. *Evolution*, 28: 677-686.
- Medina, E. (1990). Eco-fisiología y evolución de las Bromeliaceae. *Boletín de La Academia Nacional de Ciencias, Córdoba*, 59(1-2): 71-100.
- Mejía-Chang, M., Reyes-García, C., Seibt, U., Royles, J., Meyer, M. T., Jones, G. D. y Griffiths, H. (2021). Leaf water $\delta^{18}\text{O}$ reflects water vapour exchange and uptake by C₃ and CAM epiphytic bromeliads in Panama. *Functional Plant Biology*, 48(7): 732-742.

-
-
- Mosti, S., Raffaelli, M., y Brighigna, L. (2005). The *Tillandsia* trichome (Bromeliaceae) and its use in species identification. *Webbia*, 60(2): 577-598.
- Munns, R., James, R. A., Sirault, X. R., Furbank, R. T. y Jones, H. G. (2010). New phenotyping methods for screening wheat and barley for beneficial responses to water deficit. *Journal of experimental botany*, 61(13): 3499-3507.
- Nobel, P. S. (2009). *Physicochemical and Environmental Plant Physiology*. Academic Press.
- North, G. B., Lynch, F. H., Maharaj, F. D., Phillips, C. A., y Woodside, W. T. (2013). Leaf hydraulic conductance for a tank bromeliad: axial and radial pathways for moving and conserving water. *Frontiers in Plant Science*, 4 (78):1-20.
- Ohroi, T., Nobira, H., Sakata, Y., Taji, T., Yamamoto, C., Nishida, K. y Tanaka, S. (2007). Foliar trichome-and aquaporin-aided water uptake in a drought-resistant epiphyte *Tillandsia ionantha* Planchon. *Planta*, 227(1): 47-56.
- Palmer, J.M (2009).The mesurement of transsmision, absorbtion, emission and reflection. En: Bass, M., DeCusatis, C., Enoch, J., Lakshminarayanan, V., Li, G., Macdonald, C. y Van Stryland, E. (eds.). *Handbook of optics, Volume II: Design, fabrication and testing, sources and detectors, radiometry and photometry*. McGraw-Hill, USA. 25.1-25.22 p.
- Parker, A. J., Haskins, E. F., y Deyrup-Olsen, I. (1982). Toluidine blue: a simple, effective stain for plant tissues. *The American Biology Teacher*: 487-489.
- Pierce, S. (2007). The jeweled armor of *Tillandsia*: multifaceted or elongated trichomes provide photoprotection. *Aliso: A Journal of Systematic and Evolutionary Botany*. 23(1): 44-52.
- Pinzón, J. P., Ramírez-Morillo, I. M., Carnevali, G., Barfuss, M. H., Till, W., Tun, J., y Ortiz-Díaz, J. J. (2016). Phylogenetics and evolution of the *Tillandsia utriculata* complex (Bromeliaceae, Tillandsioideae) inferred from three plastid DNA markers and the ETS of the nuclear ribosomal DNA. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181(3): 362-390.
- Popp, M., Janett, H. P., Lüttge, U., y Medina, E. (2003). Metabolite gradients and carbohydrate translocation in rosette leaves of CAM and C₃ bromeliads. *New Phytologist*, 157(3): 649-656.
- Pruppacher, H. R. y Klett, J. D. (2010). *Microphysics of Clouds and Precipitation*. Springer,
-

Dordrecht. 944 pp.

- Ramírez, I., Carnevali, G. y Chi May, F. (2004). Guía ilustrada de las Bromeliaceae de la porción mexicana de la Península de Yucatán (1era ed.). Mérida, Yucatán: Centro de Investigación Científica de Yucatán AC. 124 pp.
- Raven, J.A. (1993). The evolution of vascular plants in relation to quantitative functioning of dead water-conducting cells and stomata. *Biological Reviews*, 68: 337–363.
- Reyes-García, C., y Griffiths, H. (2009). Ecophysiological studies of perennials of the Bromeliaceae family in a dry forest: strategies for survival. *Perspectives in biophysical plant ecophysiology. A tribute to Park S. Nobel*, 121-151.
- Reyes-García, C., Mejía-Chang, M., Jones, G. D., y Griffiths, H. (2008). Water vapour isotopic exchange by epiphytic bromeliads in tropical dry forests reflects niche differentiation and climatic signals. *Plant, cell & environment*, 31(6): 828-841.
- Reyes-García, C., Mejia-Chang, M., y Griffiths, H. (2012). High but not dry: diverse epiphytic bromeliad adaptations to exposure within a seasonally dry tropical forest community. *New Phytologist*, 193(3): 745-754.
- RStudio Team (2015). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.
- Rubinson, J. F., Aguilar-Ortega, M. T., y Rubinson, K. A. (2000). Química analítica contemporánea. Prentice-Hall Hispanoamericana. México, D.F. 615 p.
- Sack, L., y Scoffoni, C. (2013). Leaf venation: structure, function, development, evolution, ecology and applications in the past, present and future. *New phytologist*, 198(4): 983-1000.
- Salo, D., Zhang, H., Kim, D. M., y Berezin, M. Y. (2014). Multispectral measurement of contrast in tissue-mimicking phantoms in near-infrared spectral range of 650 to 1600 nm. *Journal of biomedical optics*, 19(8): 086008.
- Scoffoni, C., Rawls, M., McKown, A., Cochard, H. y Sack, L. (2011). Decline of leaf hydraulic conductance with dehydration: relationship to leaf size and venation architecture. *Plant Physiology*, 156(2): 832-843.

-
-
- Seelig, H. D., Hoehn, A., Stodieck, L. S., Klaus, D. M., Adams Iii, W. W., y Emery, W. J. (2008). The assessment of leaf water content using leaf reflectance ratios in the visible, near-, and short-wave-infrared. *International Journal of Remote Sensing*, 29(13): 3701-3713.
- Siesler, H. W., Ozaki, Y., Kawata, S., y Heise, H. M. (2008). *Near-infrared spectroscopy: principles, instruments, applications*. Wiley-VCH, Weinheim, Germany. 355 p.
- Smith, J. A. C. (1989). Epiphytic bromeliads. En: *Vascular plants as epiphytes* (pp. 109-138). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Smith, T. J. y McKenna, C. M. (2013). A comparison of logistic regression pseudo R² indices. *Multiple Linear Regression Viewpoints*, 39(2): 17-26.
- Stefano, M., Papini, A., y Brighigna, L. (2008). A new quantitative classification of ecological types in the bromeliad genus *Tillandsia* (Bromeliaceae) based on trichomes. *Revista de Biología Tropical*, 56(1): 191-203.
- Taiz, L. y Zeiger, E. (2003). *Plant Physiology*. 3rd. Sinauer Associates. England. 690 p.
- Tomlinson, P. B. (1969). III. Commelinales-Zingiberales. En: Metcalfe, CR. (ed.). *Anatomy of the monocotyledons*. Clarendon Press. Oxford, UK. 446 p.
- Venables WN, Ripley BD (2002). *Modern Applied Statistics with S*, Fourth edition. Springer, New York. ISBN 0-387-95457-0, <https://www.stats.ox.ac.uk/pub/MASS4/>.
- Winkler, U., y Zotz, G. (2009). Highly efficient uptake of phosphorus in epiphytic bromeliads. *Annals of botany*, 103(3): 477-484.
- Zhang, S., Huang, J., Chen, Z., y Lai, Y. (2017). Bioinspired special wettability surfaces: from fundamental research to water harvesting applications. *Small*, 13(3): 1602992.
- Zhu, H., Guo, Z., y Liu, W. (2016). Biomimetic water-collecting materials inspired by nature. *Chemical Communications*, 52(20): 3863-3879.
- Zotz, G. (2016). *Plants on plants: The biology of vascular epiphytes*. Springer International Publishing. Berlin, Germany. 292 p.

ANEXO

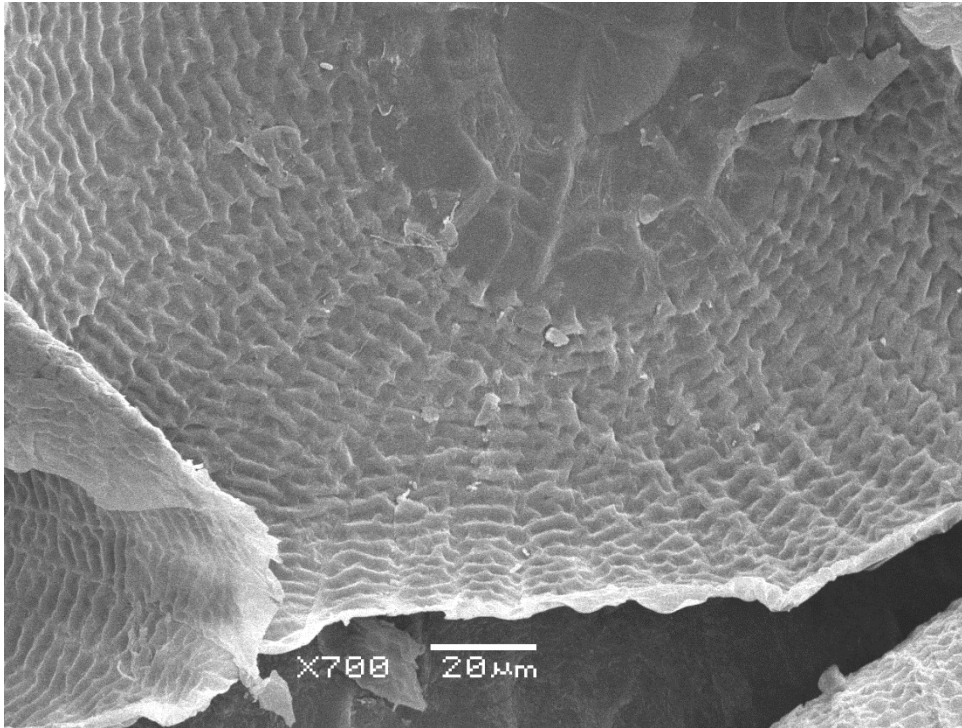


Figura 1. Microscopía de los tricomas foliares en la sección media adaxial de *Tillandsia funckiana* microscopio electrónico de barrido.

Cuadro 1. Valores utilizados en el modelo de Hagen-Poiseuille para calcular la velocidad interna del agua en 17 especies de bromeliáceas epífitas. Gradiente de potencial hídrico ($\Delta\Psi$), radio de las traqueidas, largo de la hoja y viscosidad del agua a 20°C. El valor máximo de potencial hídrico usado corresponde al valor promedio por grupo funcional de Males (2017). Los datos de velocidad interna de *Guzmania* sp. se calcularon con datos correspondientes a *Guzmania monostachia* como *proxy*.

Especies	$\Delta\Psi$ (MPa)	Radio de las traqueidas (μm)	Largo de hoja (m)	Velocidad del agua en el xilema (mm s^{-1})
Con transporte externo				
<i>Tillandsia balbisiana</i>	0.86	4.12	0.32	0.006
<i>Tillandsia caput medusae</i>	0.86	3.45	0.19	0.007
<i>Tillandsia ionantha</i>	0.86	3.25	0.04	0.025
<i>Tillandsia juncea</i>	0.86	2.9	0.28	0.003
<i>Tillandsia recurvata</i>	0.86	2.38	0.07	0.009
<i>Tillandsia schiedeana</i>	0.86	4.27	0.12	0.016
<i>Tillandsia streptophylla</i>	0.86	6	0.27	0.014
<i>Tillandsia usneoides</i>	0.86	2.61	0.04	0.019
<i>Tillandsia yucatana</i>	0.86	4.58	0.2	0.011
Sin transporte externo				
<i>Aechmea bracteata</i>	1.07	8.7	0.98	0.010
<i>Guzmania</i> sp.	1.01	3.85	0.48	0.004
<i>Tillandsia brachycaulos</i>	0.86	4.4	0.12	0.017
<i>Tillandsia dasyliiriifolia</i>	1.07	7.87	0.56	0.015
<i>Tillandsia elongata</i>	1.07	4.45	0.32	0.008
<i>Tillandsia funckiana</i>	0.86	2.14	0.03	0.018
<i>Tillandsia polystachia</i>	1.07	3.60	0.16	0.011
<i>Tillandsia utriculata</i>	1.07	4.20	0.31	0.008

Cuadro 2. Velocidad promedio del agua en el transporte hídrico externo en las 17 especies de bromeliáceas epífitas analizadas.

Especie	Velocidad externa promedio mm s ⁻¹
<i>Tillandsia yucatanana</i>	0.53 ±0.04
<i>Tillandsia streptophylla</i>	0.40 ±0.21
<i>Tillandsia caput medusae</i>	0.32 ±0.06
<i>Tillandsia recurvata</i>	0.27 ±0.07
<i>Tillandsia juncea</i>	0.24 ±0.12
<i>Tillandsia schiedeana</i>	0.11 ±0.05
<i>Tillandsia ionantha</i>	0.09 ±0.02
<i>Tillandsia balbisiana</i>	0.05 ±0.02
<i>Tillandsia usneoides</i>	0.04 ±0.009
<i>Tillandsia funckiana</i>	0 ±0
<i>Aechmea bracteata</i>	0 ±0
<i>Tillandsia utriculata</i>	0 ±0
<i>Tillandsia dasyliriifolia</i>	0 ±0
<i>Guzmania sp.</i>	0 ±0
<i>Tillandsia brachycaulos</i>	0 ±0
<i>Tillandsia elongata</i>	0 ±0
<i>Tillandsia polystachia</i>	0 ±0

Cuadro 3. Resultados de la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk en las variables anatómicas a analizar y velocidad del agua.

Shapiro-Wilk	Velocidad externa	Diámetro de las traqueidas	DIV:DIE	Densidad de tricomas	Tamaño de tricomas	Traslape	Distancia de discos
W	0.7615	0.8572	0.896	0.9749	0.9482	0.8897	0.92
P (α=0.05)	0.000630	0.01385	0.05829	0.8965	0.4283	0.04583	0.1479

Cuadro 4. VIF y Tolerancia de todas las variables independientes para el modelo de regresión. Se observa multicolinealidad dada por la variable Traslape.

	<i>Log</i> diámetro de las traqueidas	DIV:DIE	Densidad de tricomas	Tamaño de tricomas	Distancia de discos	<i>Log</i> traslape
VIF	1.403976	1.404971	4.302491	3.935111	1.587135	7.620926
Tolerancia	0.7122631	0.7117585	0.2324235	0.2541225	0.6300663	0.131217

Cuadro 5. VIF y Tolerancia de las variables independientes después de eliminar variables con colinealidad del modelo de regresión.

	<i>Log</i> diámetro de las traqueidas	DIV:DIE	Densidad de tricomas	Tamaño de tricomas	Distancia de discos
VIF	1.267651	1.404601	1.617830	1.363504	1.529648
Tolerancia	0.7888607	0.7119459	0.6181120	0.7334046	0.6537453

Cuadro 6. Modelo de regresión logística del transporte hídrico externo con todas las variables independientes sin problema de colinealidad. Modelo basado en chi cuadrada como prueba de significancia. Devianza nula: 23.5081 a 16 grados de libertad, devianza residual: 9.7429 a 11 grados de libertad, AIC: 21.743 y *score* del número de iteraciones de Fisher: 7

	Coefficientes	EE	Devianza	Pr(>Chi)
Intercepto	-4.4736	7.501		
Diámetro de las traqueidas	-0.0604	0.251	2.088	0.1485
Densidad de tricomas	0.1291	0.094	2.978	0.0844 .
Tamaño de tricomas	104.7454	64.306	7.275	0.0070**
Distancia de discos	-0.0100	0.017	0.562	0.4534
DIV.DIE	-3.8434	4.944	0.862	0.3532

Cuadro 7. Diámetro promedio de las traqueidas en tres secciones de la hoja de cuatro especies de bromeliáceas epífitas. $\bar{X} \pm EE$.

Especie	Sección	Diámetro promedio de las traqueidas (μm)
<i>Aechmea bracteata</i> (Sw.) Griseb.	Punta	17.30 ± 0.8637
	Media	18.14 ± 0.0808
	Base	18.12 ± 0.3075
<i>Tillandsia balbisiana</i> Schult.& Schult. f.	Punta	8.67 ± 0.2778
	Media	8.60 ± 0.5760
	Base	11.50 ± 0.9784
<i>Tillandsia elongata</i> Kunth var. <i>subimbricata</i> (Baker) L. B. Sm	Punta	11.27 ± 0.5546
	Media	9.27 ± 0.7561
	Base	9.67 ± 0.5367
<i>Tillandsia usneoides</i> (L.) L.	Punta	3.19 ± 0.0883
	Media	5.46 ± 0.4780
	Base	3.85 ± 0.0533