

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

---

---

## FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

### EL EFECTO DE *Phlebodium areolatum* EN LA FORMACIÓN DE SUELOS SUSPENDIDOS Y EN LA ASOCIACIÓN ENTRE EPÍFITAS.

# T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS NATURALES

PRESENTA:

M. en BIB $\gamma$ C ELIZABETH VICTORIANO ROMERO

DIRECTOR: DR. ALEJANDRO FLORES PALACIOS

CO-DIRECTOR: DR. JOSÉ GUADALUPE GARCÍA FRANCO

## **Reconocimientos**

A CONACyT por la beca de manutención (No. 274309) otorgada durante la realización de los estudios de Doctorado.

A Idea Wild por donarme equipo de ascenso indispensable para la realización de este estudio.

Al Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación (CIByC) de la UAEM por brindarme el espacio para la realización de mis estudios.

Al Instituto de Ecología A.C. (INECOL) por brindarme el espacio y apoyo logístico en campo durante mi estancia en Veracruz.

Al Dr. Antonio Guillen por permitirme trabajar en su terreno y facilitarme la logística durante los muestreos en campo.

A mis Co-directores de Tesis; Dr. Alejandro Flores Palacios y Dr. José Guadalupe García Franco por sus valiosas aportaciones a esta tesis y todo el apoyo brindado. Gracias por todas las enseñanzas, confianza y paciencia brindada.

A mi comité tutorial: Dra. Susana Valencia Díaz, Dr. Klaus V. Mehltreter y Dr. Víctor Hugo Toledo Hernández por el apoyo en todo momento así como sus acertadas aportaciones al proyecto.

A la Dra. Rosa Cerros Tlatilpa, Dra. Karla María Aguilar Dorantes, Dra. Sandra Milena Ospina Garcés, Dra. Michelle Ivonne Ramos Robles, Dra. Carmen Agglael Vergara Torres y Dr. Jonás Morales Linares quienes ayudaron a mejorar el escrito durante las evaluaciones de los exámenes permanencia, predoctoral y grado.

A todas las personas quienes me apoyaron en campo y laboratorio.

A la familia Vázquez San Gabriel quienes también me brindaron su confianza y apoyo en campo.

A Baldomero Victoriano Ramírez por todo el apoyo brindado.

## Índice

Resumen general.....	1
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	3
Introducción general .....	3
Objetivo general .....	7
Objetivos específicos .....	7
Hipótesis general .....	8
Sitio de estudio .....	8
Bibliografía.....	10
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	15
Epiphyte associations and canopy soil volume: nutrient capital and factors influencing soil retention in the canopy .....	15
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	28
Interacción entre epífitas durante la formación de suelo suspendido: Un experimento en un bosque mesófilo de montaña del suroeste de México .....	28
Resumen .....	29
Introducción.....	30
Material y métodos .....	33
Área de estudio .....	33
Diseño experimental .....	33
Análisis de datos.....	37
<i>Retención y contenido de nutrientes del suelo suspendido</i> .....	37
<i>Efectos mutuos entre epífitas</i> .....	38
Resultados.....	39
Retención y contenido de nutrientes del suelo suspendido .....	39
Efectos mutuos entre epífitas.....	40
Discusión .....	42
Formación del suelo suspendido.....	43
Efectos de las interacciones en las carpetas de epífitas .....	46
Conclusiones.....	49
Agradecimientos.....	49
Bibliografía.....	50
Figuras .....	55
Figura 1.....	55
Figura 2.....	56
Figura 3.....	57
Cuadros.....	58
Cuadro 1 .....	58
Cuadro 2 .....	60
Cuadro 3. ....	61
Cuadro 4 .....	63
Cuadro 5 .....	65
Cuadro 6 .....	66

Material Suplementario .....	67
Figuras .....	68
Figura S1 .....	68
Figura S2 .....	69
Figura S3 .....	70
Cuadros .....	71
Cuadro S1 .....	71
Cuadro S2 .....	72
Cuadro S3 .....	72
Cuadro S4 .....	73
Cuadro S5 .....	74
Cuadro S6 .....	76
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	77
¿Las especies epífitas asisten la germinación entre ellas? Un experimento en un bosque mesófilo de montaña del sureste de México .....	77
Resumen .....	78
Introducción .....	79
Material y métodos .....	83
Área de estudio .....	83
Colecta de material biológico y preparación de lotes de esporas/semillas .....	83
Experimento de germinación in situ .....	85
Germinación en in vitro .....	86
Análisis de datos .....	88
Resultados .....	90
Germinación in vitro .....	90
Germinación in situ .....	91
Germinación <i>in situ</i> de <i>Phlebodium areolatum</i> .....	92
Germinación <i>in situ</i> de las especies de <i>Tillandsia</i> .....	94
Discusión .....	95
Germinación in situ de <i>Tillandsia</i> .....	96
Germinación in situ de <i>P. areolatum</i> .....	100
Conclusiones .....	102
Agradecimientos .....	102
Bibliografía .....	103
Figuras .....	109
Figura 1 .....	109
Figura 2 .....	110
Cuadros .....	111
Cuadro 1 .....	111
Cuadro 2 .....	112
Cuadro 3 .....	113
Cuadro 4 .....	114
Cuadro 5 .....	114
Material suplementario .....	115
Figuras .....	116
Figura S1 .....	116

Figura S2 .....	117
Figura S3 .....	118
Figura S4 .....	119
Cuadros .....	120
Cuadro S1 .....	120
Cuadro S2 .....	121
Cuadro S3 .....	122
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	123
Discusión general .....	123
Conclusiones generales.....	127
Bibliografía.....	129

## Resumen general

Las comunidades de organismos tienen características emergentes que no se explican por la simple presencia de sus especies. Entre las epífitas del bosque mesófilo, una de estas características emergentes es el suelo suspendido. Los procesos que originan y mantienen al suelo suspendido (CS) son poco conocidos. En el **primer capítulo** de esta tesis, se hizo una breve revisión acerca del conocimiento de los suelos suspendidos, mostrando la carencia de datos sobre estos procesos, y en un bosque mesófilo de montaña del centro de Veracruz, se realizó investigación acerca de los procesos responsables de la creación de los CS. En el **segundo capítulo**, se hizo un experimento natural acerca de la distribución de las carpetas de epífitas en los árboles y los factores asociados al volumen de CS; se encontró que las carpetas de epífitas forman parches donde ocurre o no CS y hay especies pioneras que habitan en carpetas sin CS, mientras que otras lo hacen mayormente en carpetas donde ya se ha desarrollado CS, el volumen de CS está principalmente asociado con el helecho *Phlebodium areolatum*, y el contenido de nutrientes del CS no se relaciona con la composición de epífitas, pero la concentración de algunos nutrientes cambia con el volumen de CS. Cuatro especies de epífitas son las más frecuentes en las carpetas de epífitas *P. areolatum*, *Tillandsia kirchoffiana*, *T. multicaulis* y *T. punctulata*. En el **tercer capítulo**, se investigó experimentalmente cómo, al co-ocurrir estas especies, crean CS y cómo interactúan entre ellas. Después de dos años de experimentación se encontró que la creación de CS depende únicamente de la presencia de *P. areolatum*, el banco de nutrientes del CS depende tanto de las epífitas (e.g. disminuyendo algunos nutrientes), como de la microflora; las interacciones entre las epífitas son principalmente de competencia y son más intensas entre especies congéneres, los mayores costos de adecuación ocurren en la supervivencia, pero las plantas también reducen mutuamente sus tasas de crecimiento. En el **cuarto capítulo**, se investigó si ocurre facilitación durante la germinación entre las epífitas y si este mecanismo contribuye a la creación de carpetas de epífitas y eventualmente a la creación de CS. En correspondencia con esta hipótesis, las esporas de *P. areolatum* germinan más bajo nodrizas de *Tillandsia*, lo que explica que este helecho sea poco frecuente en carpetas monoespecíficas. En cambio, las tres especies de *Tillandsia* germinan mejor en ramas desnudas, en sustratos inertes o con nodrizas de *P. areolatum* y menos en nodrizas congéneres, lo que muestra nuevamente competencia entre congéneres. Las epífitas son un componente biodiverso e importante del

dosel de los bosques de montaña húmedos (e.g. bosque mesófilo de montaña), este trabajo muestra que el CS no se produce por la acumulación pasiva de materia orgánica en las ramas de los árboles, es producto de la acumulación activa de un helecho. Esta acción ocurre porque el helecho es facilitado en su germinación por especies pioneras que germinan mejor en ramas desnudas (e.g. *Tillandsia*), mientras crece, el helecho acumula materia orgánica entre su sistema de rizomas y raíces, creando un histosol. Entre las especies estudiadas, las carpetas de epífitas son sistemas de interacciones competitivas, este sistema ayuda a la creación de CS al incrementar la mortalidad de ramets. Los nutrientes del CS no son sólo ocasionados por el material que se acumula, la microflora del CS y aquella asociada a las epífitas interviene en el enriquecimiento de nutrientes.

## CAPÍTULO 1

### Introducción general

Las especies de plantas se encuentran en constantes interacciones entre ellas, los efectos directos resultantes de estas interacciones pueden ser positivos, negativos o neutros, los cuales moldean la estructura y conducen la dinámica de las comunidades vegetales (Callaway 1995; Callaway & Walker 1997). Un sistema donde las plantas interactúan constantemente, con diferentes efectos y direcciones, son las plantas epífitas (Mougi 2016; Zotz 2016). Las epífitas vasculares son plantas que viven al menos una fase de su ciclo de vida sobre otra planta (árboles hospederos o bien llamados forofitos), y representan el 9% de la riqueza de especies de plantas vasculares del mundo (Benzing 1990; Zotz 2013; Flores-Palacios 2016). Esta interacción planta-planta tiene dos principales direcciones: las interacciones hospedero-epífita y aquellas epífita-epífita (Benzing 1990). Las interacciones hospedero-epífita son fuertemente asimétricas y se han considerado como comensalistas y en algunos casos amensalistas, por los efectos neutros, benéficos y limitantes de los árboles hacia las epífitas (Benzing 1990; Vergara-Torres *et al.* 2010; Mougi 2016). Los efectos de las epífitas en los árboles están menos estudiados y se han sugerido efectos positivos (e.g. Stanton *et al.* 2014), neutrales (e.g. Flores-Palacios 2016) y negativos (Soria *et al.* 2014) (Zotz 2016; Gotsch *et al.* 2016). La relación epífita-epífita ha sido muy poco estudiada, se han sugerido efectos negativos (competencia) y positivos (facilitación) entre pares de especies, ya sea documentados por la frecuencia de co-ocurrencia (e.g. vecinos más cercano; Valencia-Díaz *et al.* 2012) o por experimentos en carpetas de epífitas donde las especies co-ocurren, compartiendo rizosfera (e.g. Jian *et al.* 2013).

En el dosel los individuos de las epífitas se agrupan en carpetas donde crean una rizosfera y en muchas ocasiones retienen suelo (Gotsch *et al.* 2016). En esta rizosfera ocurren interacciones entre las raíces de las plantas y el suelo, que pueden beneficiar a las comunidades de plantas (Yang *et al.* 2009). Pero también podrían ocurrir interacciones entre epífitas, que hasta ahora ningún estudio ha documentado. La acumulación de materia orgánica muerta en esta rizosfera crea un histosol, conocido como “suelo suspendido” (Gotsch *et al.* 2016). En las últimas décadas se ha destacado la importancia funcional de los suelos suspendidos en el ecosistema, esto es porque se ha hipotetizado que provee recursos a las mismas epífitas, a los árboles hospederos o incluso a otros compartimentos del ecosistema (i.e. el suelo, Gotsch *et al.* 2016). Por ejemplo, estos grandes conjuntos de epífitas retienen humedad (Veneklass *et al.* 1990), amortiguan el microclima del dosel (Freiberg 2001; Stuntz *et al.* 2002; Stanton *et al.* 2014) y tienen una reserva de nutrientes (Nadkarni 1984; Coxson & Nadkarni 1995; Flores-Palacios & García-Franco 2004; Cardelús *et al.* 2009; Tejo-Haristoy *et al.* 2014). De esta forma contribuyen al ciclo de nutrientes del ecosistema cuando: 1) se reincorpora la biomasa epífita que cae al suelo, 2) los nutrientes que están disponibles en la carpeta de epífitas son lixiviados, y c) los árboles generan raíces apogeotropicas dentro de las carpetas de epífitas (Nadkarni 1981; Coxson & Nadkarni 1995; Leary *et al.* 2004; Cardelús *et al.* 2009). Además, los recursos creados por las epífitas (agua, comida, sitios de anidación) se relacionan positivamente con la diversidad de animales y los hábitats creados por las epífitas ocasionan que las densidades de invertebrados puedan ser iguales que las del suelo del bosque (Nadkarni & Longino 1990; Gotsch *et al.* 2016; Ortega-Solís *et al.* 2017). Un aspecto poco estudiado, es que en el suelo suspendido se puede formar un banco de semillas (Nadkarni & Harber 2009). Todos estos beneficios han sido reconocidos en las carpetas de epífitas con suelo suspendido, haciendo que en su conjunto tengan un rol

importante no sólo en el dosel, sino en el ecosistema completo (Gotsch *et al.* 2016; Ortega-Solís *et al.* 2017). Sin embargo, aunque se sugiere que las epífitas son ingenieros del ecosistemas (Ortega-Solís *et al.* 2017), no existen estudios experimentales que prueben cómo se desarrolla en suelo suspendido y al conjunto de interacciones participa en su retención.

Los ecosistemas con mayor carga de epífitas son los bosques neotropicales de montaña, en estos, los grupos más representativos de epífitas son Orquideaceae, Bromeliaceae, Araceae y Pteridofitas (Gentry & Dodson 1987; Benzing 1990; Hoshizaki & Moran 2001; Mickel & Smith 2004; Mendoza-Ruíz & Pérez-García 2009). Aunque estos grupos son los más representativos, hay una amplia variabilidad espacio-temporal en la composición y estructura de la comunidad de epífitas (Wolf 1998). Al interior de un mismo bosque las especies de epífitas pueden encontrarse en parches monoespecíficos o en grandes subconjuntos de especies (carpetas de epífitas) en el dosel (Woods 2017). La sucesión en epífitas se ha estudiado desde líquenes e incluso se han inferido modelos de sucesión para el árbol entero (Dudgeon 1923; Woods 2017). No obstante, no hay datos que muestren qué especies pueden ser pioneras o de sucesión tardía en las carpetas de epífitas en el dosel. Conocer los patrones sucesionales de las plantas epífitas que se agrupan en carpetas podrían ayudar a entender la dinámica de sus comunidades, ya que esto podría facilitar el proceso de establecimiento de las epífitas (Dudgeon 1923; Nadkarni 2000).

La estrecha interacción epífita-epífita que ocurre en las carpetas, podría haber ocasionado el desarrollo de estrategias para competir y/o facilitar la co-existencia en el espacio y tiempo (Wolf 1998; Callaway & Howard 2007). Entre las carpetas de epífitas las especies que se encuentran con mayor biomasa en los suelos suspendidos se les han denominado epífitas de humus (Dressler 1981, Benzing 1990, Brown 1990; Woods *et al.* 2015). Entre estas especies algunas especies de helechos tienen una gran biomasa en los

suelos suspendidos, lo que sugiere que constituyen parte fundamental porque tienen rizomas que subsisten al interior de los suelos, pero no existen ningún dato que lo pruebe (Sillet & Bailey 2003; Flores-Palacios & García-Franco 2004; Enloe *et al.* 2006). No obstante, especies de otras familias (e.g. Bromeliaceae) son también frecuentes en las carpetas de epífitas con suelo suspendido, pero estas epífitas son de bajo contenido nutricional e incluso pueden competir con otras especies de epífitas, inhibiendo la germinación (Valencia-Díaz *et al.* 2012; Flores-Palacios & García-Franco 2014; Ortega-Solís *et al.* 2017).

Las carpetas de epífitas son sistemas de interacciones estrechas que han sido poco estudiados. En ellas, el suelo suspendido es una propiedad emergente cuya importancia en el ecosistema ha sido ampliamente reconocida (e.g. Gotsch *et al.* 2016), incluso se han creado modelos para entender cómo las epífitas y los suelos suspendidos se incorporan en la dinámica del ecosistema (Coxson & Nadkarni 1995). Por lo tanto, resulta importante entender la dinámica de los suelos suspendidos; es decir, saber si existe una flora particular de los suelos suspendidos, así como identificar qué especies están participando en su retención y determinar qué tipo de interacción están ocurriendo en las carpetas de epífitas en etapas de germinación, crecimiento y supervivencia, además de entender la dinámica de nutrientes en los suelos suspendidos.

En un bosque mesófilo de montaña, se han identificado a cuatro especies de epífitas que tienen la mayor biomasa en las carpetas de epífitas y en estas carpetas, se registró mayor biomasa muerta que viva (Flores-Palacios & García-Franco 2004). Entre estas especies de epífitas, tres pertenecen al género de *Tillandsia* y una es un helecho (*Phlebodium areolatum*, Humb. & Bonpl. ex. Willd). Esta última podría ser considerado como epífita de humus, ya que posee un sistema de rizomas suculentos, con una red de raíces subterráneas que podrían

retener el suelo suspendido, mientras sus hojas emergen al exterior; a diferencia de esta especie de helecho, las especies de *Tillandsia* tienen raíces atrofiadas que sirven para fijarse al sustrato y podrían retener menor cantidad de materia orgánica (Benzing 1990; Mickel & Smith 2004; Mendoza-Ruíz & Pérez-García 2009). Estas especies de epífitas están participando en la dinámica de las carpetas de epífitas con suelos suspendidos, pero hasta ahora no se conoce cómo contribuyen. En un fragmento de bosque mesófilo del centro de México determinamos qué especies de epífitas son clave en la retención de suelo suspendido así como la contribución de nutrientes y que tipo de interacción determina la co-existencia mutua en las carpetas con suelo suspendido. Además de determinar la sucesión de las especies de epífitas en el dosel.

### **Objetivo general**

Con un énfasis en *Phlebodium areolatum*, identificar las especies clave en la formación, retención y acumulación de nutrientes de suelo suspendido y la dinámica de interacciones que desarrollan las especies más frecuentes del suelo suspendido mientras coexisten en carpetas de epífitas.

### **Objetivos específicos**

- I) Identificar los patrones de sucesión de la flora epífita en relación con el volumen del suelo suspendido en carpetas de epífitas.
- II) Conocer qué especies y atributos del dosel son responsables de la retención de suelo suspendido, y en la acumulación de nutrientes

- III) Determinar experimentalmente que tipo de interacciones ocurren (competencia-facilitación) mientras co-existen las especies más abundantes de las carpetas de epífitas y cómo, al interactuar, retienen suelo suspendido y nutrientes.
- IV) Determinar el efecto nodriza en el establecimiento de las especies de epífitas frecuentes de suelos suspendidos.

### **Hipótesis general**

Si en las carpetas de epífitas con suelos suspendidos las especies se encuentra asociadas a alguna especie clave para su co-existencia y retención del suelo en el dosel, entonces las especies de epífitas de los suelos suspendidos que estén asociadas con la presencia de la especie clave obtendrán mayor beneficio en germinación, crecimiento, supervivencia, retención de suelo y nutrimentos mientras que disminuirá estas variables cuando no estén asociadas la especie facilitadora.

### **Sitio de estudio**

El estudio se llevó a cabo en un fragmentos de bosque mesófilo de montaña (19° 30'56" N; 96° 59'50" O) en el municipio de San Andrés Tlanelhuayocan, Veracruz, México, a 1650 m s.n.m. El clima es templado-húmedo con una precipitación media anual de 1650 mm y temperatura anual de 14°C (Williams-Linera *et al.* 2002). La vegetación se encuentra dominada por árboles de *Quercus* spp. (Fagaceae), *Liquidambar macrophylla* Oerst. (Hamamelidaceae) y *Clethra mexicana* (Cyrillaceae). En un fragmento de bosque aledaño a la zona de estudio han registrado 118 especies de epífitas, de las cuales las familias Bromeliaceae y Polypodiaceae (ambas con 10 especies) fueron las mejor representadas (Flores Palacios & García Franco 2004). Las especies de *Tillandsia kirchoffiana*, *Phlebodium*

*areolatum* y *T. multicaulis* fueron las especies con mayor biomasa sobre las ramas interiores de los árboles de *Quercus*. Estas especies de epífitas se encontraban reteniendo materia orgánica, agua y nutrientes, formando los llamados “suelos suspendidos” (Flores-Palacios & García-Franco 2004).

## **Bibliografía**

- Benzing DH. 1990.** Vascular epiphytes. Cambridge University Press. Cambridge.
- Brown AD. 1990.** El epifitismo en las selvas montañas del Parque Nacional “El Rey”, Argentina: composición florística y patrón de distribución. *Revista de Biología Tropical*, **38**: 155–166.
- Callaway RM. 1995.** Positive interactions among plants. *Botanical Review*, **61**: 306–349.
- Callaway RM, Walker LR. 1997.** Competition and facilitation: a synthetic approach to interactions in plant communities. *Ecology*, **78**: 1958–1965.
- Callaway RM, Howard TG. 2007.** Competitive Networks, Indirect Interactions, and Allelopathy: A Microbial Viewpoint on Plant Communities. In: Esser K., Löttge U., Beyschlag W., Murata J. (eds) *Progress in Botany*. Progress in Botany, vol 68. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Cardelús CL, MacK MC, Woods C, Demarco J, Treseder KK. 2009.** The influence of tree species on canopy soil nutrient status in a tropical lowland wet forest in Costa Rica. *Plant and Soil*, **318**: 47–61.
- Coxson DS, Nadkarni NM. 1995.** Ecological roles of epiphytes in nutrient cycles of forest ecosystems. In: Lowman M. D., Nadkarni N.M. (eds) *Forest canopies*: 495-543. San Diego, Academic Press.
- Dudgeon W. 1923.** Succession of epiphytes in the *Quercus incana* forest at Landour, Western Himalayas. Preliminary notes. *The Journal of the Indian Botanical Society*, **3**: 270–272.
- Dressler RL. 1981.** The orchids natural history and classification. Harvard University Press Cambridge.

- Enloe HA, Graham RC, Sillett SC. 2006.** Arboreal histosols in old-growth redwood forest canopies, Northern California. *Soil Science Society of America Journal*, **70**: 408–418.
- Freiberg M. 2001.** The influence of epiphyte cover on branch temperature in a tropical tree. *Plant Ecology*, **155**: 241–250.
- Flores-Palacios. A. 2016.** Does structural parasitism by epiphytes exist? A case study between *Tillandsia recurvata* and *Parkinsonia praecox*. *Plant Biology* **18**: 463–470.
- Flores-Palacios A, García-Franco JG. 2004.** Effect of isolation on the structure and nutrient Budget of oak epiphyte communities. *Plant Ecology*, **173**: 259–269.
- Flores-Palacios A, Barbosa-Duchateau CL, Valencia-Díaz S, Capistrán-Barradas A, García-Franco JG. 2014.** Direct and indirect effects of *Tillandsia recurvata* on *Prosopis laevigata* in the Chihuahua desert scrubland of San Luis Potosi, Mexico. *Journal of Arid Environments*, **104**: 88–95.
- Gentry AH, Dodson CH. 1987.** Diversity and biogeography of neotropical vascular epiphytes. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **74**: 205–233.
- Gotsch SG, Nadkarni NM, Amici AA. 2016.** The functional roles of epiphytes and arboreal soils in tropical montane cloud forest. *Journal of Tropical Ecology*, **32**: 455–468.
- Hoshizaki B, Moran RC. 2001.** Ferns grower's manual. Timber press, Oregon, USA, 664 p.
- Jian PY, Hu FS, Wang CP, Chiang JM, Lin TC. 2013.** Ecological facilitation between two epiphytes through drought mitigation in a Subtropical Rainforest. *PLoS ONE*, **8**: e64599.
- Leary JJK, Singleton PW, Borthakur D. 2004.** Canopy nodulation of the endemic tree legume *Acacia koa* in the mesic forests of Hawaii. *Ecology*, **85**: 3155–3157.

- Mendoza-Ruiz A, Pérez-García B. 2009.** Helechos y licopodios de México. Gobierno Federal, CONABIO, Casa abierta al tiempo, México.
- Mickel JT, Smith AR. 2004.** The Pteridophytes of Mexico. NY: The New York Botanical Garden Press, New York.
- Mougi A. 2016.** The roles of amensalistic and commensalistic interactions in large ecological network stability. Scientific report **6**: 29929; doi: 10.1338/srep29929
- Nadkarni N.M. 1981.** Canopy roots: Convergent Evolution in rain nutrient cycles. Science, **214**: 1023–1024.
- Nadkarni NM. 1984.** Epiphyte biomass and nutrient capital of a Neotropical elfin forest. Biotropica, **16**: 249–256.
- Nadkarni NM. 2000.** Colonization of stripped branch surfaces by epiphytes in a lower montane cloud forest, Monteverde, Costa Rica. Biotropica **32**: 358–363.
- Nadkarni NM, Harber WA. 2009.** Canopy seed Banks as time capsules of biodiversity in pasture-remnant tree crowns. Conservation Biology, **23**: 1117–1126.
- Nadkarni NM, Longino JT. 1990.** Invertebrates in canopy and ground organic matter in a neotropical montane forest, Costa Rica, **22** (3): 286–289.
- Ortega-Solís G, Díaz I, Mellado-Mansilla D, Tello F, Moreno R, Tejo C. 2017.** Ecosystem engineering by *Fascicularia bicolor* in the canopy of the South American temperate rainforest. Forest Ecology and Management, **400**: 417–428.
- Soria NF, Torres C, Galetto L. 2014.** Experimental evidence of an increased leaf production in *Prosopis* after removal of epiphytes (*Tillandsia*). Flora, **209**: 580–586.
- Stanton DE, Huallpa-Chavez J, Villegas L, Villasante F, Armesto J, Hedin LO, Horn H. 2014.** Epiphytes improve host plant water use by microenvironmental modification. Functional Ecology, **28**: 1274–1283.

- Sillett SC, Bailey MG. 2003.** Effects of tree crown structure on biomass of the epiphytic fern *Polypodium scolieri* (Polypodiaceae) in a redwood forest. *American Journal of Botany*, **90**: 255–261.
- Stuntz S, Simon U, Zotz G. 2002.** Rainforest air-conditioning: the moderating influence of epiphytes on the microclimate in tropical tree crowns. *International Journal of Biometeorology*, **46**: 53–59.
- Tejo-Haristoy CF, Zabowski D, Nadkarni N. 2014.** Canopy soils of Sitka spruce and bigleaf maple in the Queets River Watershed, Washington. *Soil Science Society of America Journal*, **78**: S118–S124.
- Valencia-Díaz S, Flores-Palacios A, Rodríguez-López V, Jiménez-Aparicio AR. 2012.** Effects of *Tillandsia recurvata* extracts on the seed germination of *Tillandsia* spp. *Allelopathy Journal*, **29**: 125–135.
- Vergara-Torres CA, Pacheco-Álvarez MC, Flores-Palacios A. 2010.** Host preference and host limitation of vascular epiphytes in a tropical dry forest of central Mexico. *Journal of Tropical Ecology*, **26**: 563–570.
- Veneklass E, Zagt R, Leerdam AV, Ek R, Broekhoven G, Vaan Genderen M. 1990.** Hydrological properties of the epiphyte mass of a montane tropical rain forest, Colombia. *Vegetation* **89**: 183-192.
- Williams-Linera G, Manson GRH, Vera EI. 2002.** La fragmentación del bosque mesófilo de montaña y patrones de uso del suelo en la región oeste de Xalapa, Veracruz, México. *Madera y Bosques*, **8**: 69-85.
- Wolf JHD. 1998.** Diversidad de epífitas vasculares en un paisaje fragmentado en los Altos de Chiapas, México. *Resumen electrónico del Proyecto B060*. CONABIO, México.

- Woods CL. 2017.** Primary ecological succession in vascular epiphytes: the species accumulation model. *Biotropica*, **49**: 452–460.
- Woods CL, Cardelús CL, DeWalt SJ. 2015.** Microhabitat associations of vascular epiphytes in a wet tropical forest. *Journal of Ecology*, **103**: 421–430.
- Yang J, Kloepper JW, Ryu C-M. 2009.** Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in Plant Science*, **14** (1): 1–4.
- Zotz G. 2013.** The systematic distribution of vascular epiphytes a critical update. *Botanical Journal of the Linnean society* **171**: 453-481.
- Zotz, G. 2016.** *Plants on Plants*. Switzerland: Springer.

## **CAPÍTULO 2**

**Epiphyte associations and canopy soil volume: nutrient capital and factors influencing  
soil retention in the canopy**

**Publicado en Plant Biology**

doi:10.1111/plb.13080



## RESEARCH PAPER

## Epiphyte associations and canopy soil volume: nutrient capital and factors influencing soil retention in the canopy

E. Victoriano-Romero<sup>1</sup> , J. G. García-Franco<sup>2</sup> , K. Mehltreter<sup>2</sup> , S. Valencia-Díaz<sup>3</sup> ,  
V. H. Toledo-Hernández<sup>1</sup>  & A. Flores-Palacios<sup>1</sup> 

<sup>1</sup> Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación (CIByC), Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Morelos, México

<sup>2</sup> Red de Ecología Funcional, Instituto de Ecología A.C. Veracruz, México

<sup>3</sup> Centro de Investigación en Biotecnología (CEIB), Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Morelos, México

### Keywords

Bark epiphyte; epiphyte succession; facilitation; humus epiphyte; *Phlebodium*; plant–plant interaction; *Polypodiaceae*.

### Correspondence

A. Flores-Palacios, Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación (CIByC), Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos 62209, México.  
E-mail: alejandro.florez@uaem.mx

### Editor

D. Byers

Received: 9 July 2019; Accepted:  
1 December 2019

doi:10.1111/plb.13080

### ABSTRACT

- Canopy soil (CS) volume reflect epiphyte community maturity, but little is known about the factors that retain CS or species succession within it. Humus fern species (e.g. *Phlebodium areolatum*) appear capable of retaining CS.
- In ten *Quercus* spp. we sampled 987 epiphyte mats to examine the role of the common epiphyte species and crown traits determining CS volume, in order to infer successional stages and identify pioneer and late successional species. Branch traits (height, diameter and slope), CS volume and cover of the epiphyte species were determined for each mat. Nutrient content was determined in CS random samples of 12 epiphyte associations and sizes (one sample from each size quintile).
- A total of 60% of the mats lack CS. Cover of *P. areolatum* was the main variable explaining CS volume, and this species was present in 46.8% of those with CS. Epiphyte composition was highly variable, but pioneer (species appearing in monospecific mats, without CS) and late successional species could be identified. Canopy soil nutrient content was similar among the associations of epiphytes. Magnesium, Ca and pH decreased with CS volume, while P and N increased.
- *Phlebodium areolatum* is associated with high CS volumes and could act as a key species in its retention. Monospecific mats of pioneer species lack CS or have low volumes, while CS is much higher in mats with late successional species, but the mechanisms of CS formation and nutrient retention in response to interactions between epiphyte species remain to be tested.

### INTRODUCTION

Plant–soil interactions structure the functioning of ecosystems (Lambers *et al.* 2009). The microorganisms and characteristics of the soil, as well as its capacity to retain water and nutrients, are crucial for the development and maintenance of plant communities (Ettema & Wardle 2002; Van der Heijden *et al.* 2008). In turn, soil development depends on environmental factors and the source of the organic material it contains (Laliberté *et al.* 2015). In forests developing on organic soils (histosols), the organic material of the vegetation itself determines most of the soil properties and acts to incorporate nutrients into the ecosystem (Enloe *et al.* 2006; Schmidt *et al.* 2011). This suggests a reciprocal relationship between plant species and soil development (Laliberté *et al.* 2015).

The development of soils not only occurs on the forest floor, but organic soils have also been found in the tree crowns, and have been named ‘suspended soil’, ‘arboreal histosols’ or ‘canopy soils’ (CS) (Coxson & Nadkarni 1995; Bohlman *et al.* 1995; Enloe *et al.* 2006). These canopy soils are an accumulation of dead organic material and dry deposition that has been intercepted and is retained by the epiphytes in the canopy (Nadkarni 1984; Coxson & Nadkarni 1995). Canopy soil reflects the success of the epiphyte community in terms of

colonizing and persisting in the canopy (*i.e.* with high volume of epiphytic biomass and CS in larger mats), so it is possible that in accordance with CS accumulation, the epiphyte community changes following a successional path (Johansson 1974; Benzing 1990; Brown 1990; Hietz & Hietz-Seifert 1995; Coxson & Nadkarni 1995; Freiberg 1996; Nadkarni 2000; Woods 2017).

The biomass of epiphytes and CS has been estimated to be highest in tropical montane cloud forests (44 t·ha<sup>-1</sup>; Hofstede *et al.* 1993; Nadkarni *et al.* 2004; Gotsch *et al.* 2016). At local geographic scales, epiphytes can constitute up to 35% of the species and 49% of the vascular plants in these montane forests (Gentry & Dodson 1987). It has been hypothesized that the abundance of some dominant species of epiphyte can have direct and/or indirect positive effects on the establishment and development of other species (Coxson & Nadkarni 1995; Callaway *et al.* 2001; Valencia-Díaz *et al.* 2012; Flores-Palacios *et al.* 2014). For example, in a subtropical forest in Taiwan, the fern *Asplenium antiquum* Makino (*Aspleniaceae*) increases the availability of water for *Haplopteris zosterifolia* (Willd.) E. H. Crane (*Pteridaceae*), and thus facilitates the survival of *H. zosterifolia* by mitigating the seasonal effects of drought (Jian *et al.* 2013). Other positive effects occur because CS could contain high concentrations of nutrients (*e.g.* C, Ca, K, Mg, N and P; Nadkarni 1984; Coxson & Nadkarni 1995; Flores-Palacios &

García-Franco 2004; Cardelús *et al.* 2009; Tejo-Haristoy *et al.* 2014). These nutrients can be used by the epiphytes but also can be transferred to the forest through leaching, when epiphytes fall to the forest floor or when the trees generate adventitious roots within the CS (apogeotropic roots; Nadkarni 1981; Coxson & Nadkarni 1995; Leary *et al.* 2004; Cardelús *et al.* 2009). In addition, the CS retains water and acts to buffer the canopy temperature (Veneklass *et al.* 1990; Freiberg, 2001; Stuntz *et al.* 2002; Stanton *et al.* 2014).

Previous studies have determined the frequency of plants in epiphyte mats with CS (vascular and non-vascular plants) (Brown 1990; Woods *et al.* 2015; Gotsch *et al.* 2016), as well as the nutrient content of the CS or of the plants rooted within it (e.g. Nadkarni 1984; Hofstede *et al.* 1993; Flores-Palacios & García-Franco 2004; Cardelús *et al.* 2009). Few studies show that there are associations of particular species with respect to the accumulation of CS (but see Brown 1990; Woods *et al.* 2015), and no single research has tested whether the CS nutrient content varies along succession. It has been recognized that several epiphyte species are mostly or exclusively attached to CS; some authors have found ferns, aroids or orchids on CS and have named these species 'humus ferns' (Woods *et al.* 2015) and 'humus epiphytes' (Dressler, 1981, Benzing 1990; Brown 1990), and the CS (e.g. humus layer) has been taken as a microhabitat variable inside the crown (Woods *et al.* 2015). However, no research has been done to test whether there are key pioneer or late successional epiphyte species involved in retention of the CS.

The abundance and number of epiphyte species is related to the tree size (e.g. Yeaton & Gladstone 1982; Flores-Palacios & García-Franco 2006, Woods *et al.* 2015; Woods 2017); this pattern has been related to the species-area relationship, using the tree as the habitat unit for epiphytes because it is an island-like habitat (Yeaton & Gladstone 1982; Flores-Palacios & García-Franco 2006), but also to infer mechanisms of succession (Yeaton & Gladstone 1982; Woods 2017). However, epiphyte succession does not occur homogeneously inside the tree, succession of epiphytes occurs in small patches of epiphytes (mats) that are inside the tree and differ in age and position in the crown (Brown 1990; Woods *et al.* 2015). While in some tree zones (e.g. small branches in the outer canopy), most mats of epiphytes are small, monospecific, attach directly to the bark and have little or no CS, in other zones (e.g. large branches in the inner canopy) the epiphytes develop multispecies mats with much CS (Catling & Lefkovich 1989; Brown 1990; Woods *et al.*, 2015). This shows that: (i) pioneer and late successional species coexist inside trees, (ii) the successional role of the epiphyte species can be acknowledged through their association with the CS volume, and (iii) there is little support for a model of succession for the whole tree.

The inner crown of the trees is the zone containing the most CS and there is an abundance of species on it (e.g. Flores-Palacios & García-Franco 2004; Woods *et al.*, 2015). For example, in a tropical montane cloud forest of central Veracruz, Mexico, Flores-Palacios & García-Franco (2004) recorded an average of 4198.2 g·m<sup>-2</sup> of epiphyte biomass, of which 1782.5 g·m<sup>-2</sup> was live biomass and 2415.6 g·m<sup>-2</sup> was CS (referred as EDOM = epiphyte dead organic matter). The most abundant species were the bromeliad *Tillandsia kirchhoffiana* and the humus fern *Phlebodium areolatum*. Unlike other frequent epiphytes, *P. areolatum* develops a network of rhizomes and roots

within the suspended soil, which could play an important role in the retention of organic material (Flores-Palacios & García-Franco 2004). In a different study, the fern *Polypodium scolieri* Hook. and Grev., was the most abundant epiphyte in the suspended soil of *Sequoia sempervirens* [D. Don] Endl. in northern California (Enloe *et al.* 2006). This fern has a system of rhizomes and roots similar to those of *P. areolatum*, and *Polypodium scolieri* at least could be considered an important species in the canopy due to the fact that the mats with this fern stored more water available to desiccation-sensitive organisms (Sillett & Bailey 2003). In addition, other groups of epiphytes (e.g. humus ferns) have been significantly associated with microhabitats where CS was present (Brown 1990; Woods *et al.* 2015) and species of other families of epiphytes (e.g. *Bromeliaceae*, *Cyclantaceae*, *Piperaceae*, *Orchidaceae*) are also frequent in epiphytic mats with CS (Dressler 1981; Flores-Palacios & García-Franco 2004; Woods *et al.* 2015). Therefore, it is important to determine if a particular flora is associated with the volume of CS and the nutrients within it.

This study examined epiphyte mats in a tropical montane cloud forest of central Veracruz, Mexico. We had two main aims, the first was to survey the succession inside the canopy and the second was to infer how epiphytes work as CS retainers. We asked: (i) which epiphyte species could be pioneer or late-successional according to their frequency in mats with or without CS; (ii) do epiphyte species differ in their frequency in association with the most frequent humus epiphyte (*P. areolatum*); (iii) which epiphyte species and crown positions correlate with CS volume and could be key traits in the CS retention; and (iv) is the nutrient capital of the CS related to its volume and epiphyte composition? We hypothesized that the epiphyte richness and associations will change with CS volume and, when the most frequent CS species is present (e.g. *P. areolatum*), the CS volume will be larger and will have a higher nutrient content.

## MATERIAL AND METHODS

### Study site

The study was conducted from April to May 2016 in an 11-ha fragment of mature tropical montane cloud forest located in the municipality of San Andrés Tlalnelhuayocan, in Veracruz, Mexico (19°31'05" N, 97°00'16" W; 1632–1653 m a.s.l.). The mean annual temperature in the area is 14 °C and mean annual precipitation is 1650 mm. The forest is dominated by *Quercus* spp. (*Fagaceae*), *Liquidambar macrophylla* Oerst. (*Hamamelidaceae*) and *Clethra macrophylla* M. Martens and Galeotti (*Clethraceae*) (Williams-Linera *et al.* 2002; Flores-Palacios & García-Franco 2008). A total of 118 species of vascular epiphyte have been recorded in this zone, mainly *Orchidaceae* (40), *Bromeliaceae* (20) and *Polypodiaceae* (13) (Flores-Palacios & García-Franco 2008). The most frequent epiphyte species, and those with the largest biomass on the inner branches of *Quercus* spp., are *Tillandsia kirchhoffiana*, *P. areolatum* and *T. multicaulis* (Flores-Palacios & García-Franco 2004).

### Data collection

We selected ten large trees of the genus *Quercus*, each with a large load of epiphytes and characteristics deemed suitable for

safe climbing (Jepson 2000). One tree each belong to *Quercus* aff. *paxtalensis* C. H. Mull., *Q. cortesii* Liebm. and *Q. pinna-tivenulosa* C. H. Mull. and seven individuals to *Q. leiophylla* A. DC. The trees had a mean diameter at breast height (DBH) of  $57.2 \pm 9.6$  cm (hereafter we report mean  $\pm$  SD; minimum = 45.8 cm, maximum = 70.0 cm) and height of  $27.0 \pm 1.4$  m (minimum = 25.0 m, maximum = 30.0 m), and their first branches appeared at a height of  $6.6 \pm 3.0$  m (minimum = 3.4 m, maximum = 13.0 m).

In order to identify the composition of the epiphyte flora and the characteristics of the epiphyte mats, the selected trees were climbed using the single rope technique (Jepson 2000). With this method, it was possible to sample the accessible epiphyte mats of the zones I–IV of Johansson (1974). An epiphyte mat was defined in a similar way to epiphytic stands of Sanford (1968) but including a group of species sharing a rhizosphere and not overlapping with another group (Sillett & Bailey 2003); a graphic definition can be found in Nadkarni & Matelson (1989). We recorded the position of each mat in the tree, including height, diameter and slope of the branch/trunk and the vertical stratum [trunk (zone I and II), inner branches (zone III) and mid branches (zone IV) *sensu* Johansson 1974]. We also recorded the length, width and depth of the CS of each mat. The depth of the CS was measured in the centre of the mat, from the upper surface of the mat where an accumulation of dead organic material was observed to the bark of the branch/trunk. The cover of each of the vascular epiphyte species in each mat was estimated with the Braun-Blanquet scale (see Table S3; Mueller-Dombois & Ellenberg 1974). The epiphytes were identified *in situ* using field guides (e.g. Hietz & Hietz-Seifert 1994). Where this proved impossible, specimens were collected for identification in the XAL herbarium (Instituto de Ecología, A.C.). The reference specimens are deposited in the HUMO herbarium, of the Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

#### Nutrient capital of canopy soil

In order to determine the nutrient content of the CS, we selected 12 associations of epiphytes (see below for description), all with the presence of *P. areolatum*. In other types of association, CS was scarce (Table 1). For each of the 12 associations we sampled five mats differing in size (CS volume); to do so, we randomly took only one mat from each quintile of the size distribution. A PVC tube of 7.62 cm in diameter and 30.0 cm in length, serrated at one end, was used to collect 60 CS cores. The tube was introduced into the mats, turning it constantly in order to cut through the material and obtain the CS cores, without destroying the rest of the epiphyte mat. The CS samples were placed in labelled sealable plastic bags and transported to the laboratory of the Department of Functional Ecology of the Instituto de Ecología, A.C., where the live material (moss, seedlings, invertebrates) was separated from the dead organic material (CS) (*sensu* Freiberg & Freiberg 2000). The CS was stored in paper bags and oven dried at 70 °C (Barnstead, 3516M, Waltham, MA, USA) for 1 week. The dried samples were then milled (IKA mill, A11 basic, Wilmington, NC, USA) and passed through a stainless-steel sieve (No. 18; mesh size = 1.0 mm). The material obtained was stored individually in plastic bags until subsequent processing.

**Table 1.** Description of the associations of epiphytes found in 987 mats in a tropical montane cloud forest of central Veracruz, Mexico. The first column lists the keys with which the associations are identified in the Figures and the final column lists the numbers of mats of each association.

Key	Description	N
O	One single species other than <i>Phlebodium areolatum</i> , <i>Tillandsia multicaulis</i> , <i>T. punctulata</i> or <i>T. kirchhoffiana</i> .	317
OO	Two or more different species other than <i>P. areolatum</i> , <i>T. multicaulis</i> or <i>T. punctulata</i> .	76
Tk	Only <i>T. kirchhoffiana</i> .	76
TkO	<i>T. kirchhoffiana</i> and one species other than <i>P. areolatum</i> , <i>T. multicaulis</i> or <i>T. punctulata</i> .	57
Tm	Only <i>T. multicaulis</i> .	139
TmO	<i>T. multicaulis</i> and one species other than <i>P. areolatum</i> , <i>T. punctulata</i> or <i>T. kirchhoffiana</i> .	23
Tp	Only <i>T. punctulata</i> .	20
TpO	<i>T. punctulata</i> and one species other than <i>P. areolatum</i> , <i>T. multicaulis</i> or <i>T. kirchhoffiana</i> .	8
P	Only <i>P. areolatum</i> .	29
PO	<i>P. areolatum</i> and one species other than <i>T. multicaulis</i> , <i>T. punctulata</i> or <i>T. kirchhoffiana</i> .	46
POO	<i>P. areolatum</i> and two or more species other than <i>T. multicaulis</i> , <i>T. punctulata</i> or <i>T. kirchhoffiana</i> .	20
PTk	<i>P. areolatum</i> and <i>T. kirchhoffiana</i> only	31
PTkO	<i>P. areolatum</i> and <i>T. kirchhoffiana</i> and one species other than <i>T. multicaulis</i> or <i>T. punctulata</i> .	25
PTm	<i>P. areolatum</i> and <i>T. multicaulis</i> only	34
PTmO	<i>P. areolatum</i> and <i>T. multicaulis</i> and one or more species other than <i>T. punctulata</i> or <i>T. kirchhoffiana</i> .	15
PTp	<i>P. areolatum</i> and <i>T. punctulata</i> only	12
PTpO	<i>P. areolatum</i> and <i>T. punctulata</i> and one or more species other than <i>T. multicaulis</i> or <i>T. kirchhoffiana</i> .	20
PTkTmO	<i>P. areolatum</i> , <i>T. kirchhoffiana</i> and <i>T. multicaulis</i> and one or more species other than <i>T. punctulata</i> .	13
PTkTpO	<i>P. areolatum</i> , <i>T. kirchhoffiana</i> and <i>T. punctulata</i> and one or more species other than <i>T. multicaulis</i> .	10
PTmTpO	<i>P. areolatum</i> , <i>T. multicaulis</i> and <i>T. punctulata</i> and one or more species other than <i>T. kirchhoffiana</i> .	16

The pH of the samples was measured with a potentiometer (Conductronic, PC45, Puebla, Mexico) in suspensions of a 5-g sample in 20 ml distilled water (ratio 1:4). The N and C content were determined in homogenized samples of 1 g using the micro-Kjeldahl method (Etchevrs-Barra *et al.*, 1997) in an elemental analyser (LECO, Truspec Cn8051, St. Joseph, MI, USA). Cation content was determined by digesting a 0.5-g sample in a 2 ml solution of 70% HClO<sub>4</sub>, 4 ml 70% HNO<sub>3</sub>. Following digestion, the solution was decanted and calibrated to 25 ml with deionized water; the Na and K content was determined with a flame photometer (CORNING, 410, CB1, Cambridge, UK). The Mg and Ca content was determined by atomic absorption (VARIAN, AA240-f5, Santa Clara, CA, USA) and, finally, P content was measured by atomic

colorimetry (vanadate-molybdate method) in a spectrophotometer (Thermo-Fisher Spectronic, 4001/4, Waltham, MA, USA) (Etchevrs-Barra *et al.* 1997).

#### Data analyses

##### *Epiphyte associations and their relationship with crown traits*

Associations between species in the mats were identified following the tabular method of Mueller-Dombois & Ellenberg (1974); first organizing the mats by species richness in ascending order and then combining them consecutively by species composition. Association of epiphytes was determined in descending order by the frequency of species (Fig. 1). Using this method, a total of 237 association of epiphytes were obtained, with different compositions due to the large quantity of infrequent species, many of which were present in a single association. As a consequence, we identified the most frequent species and grouped the infrequent species, producing 20 epiphyte–mat associations (see Table 1).

In order to test whether the 20 associations of epiphytes differed in terms of their position on the trees (height, diameter, slope) and of the volume of CS, a one-way ANOVA was performed for each variable (*i.e.* height, diameter, slope, CS volume), followed by Tukey multiple comparisons (Zar 2010). For each mat, the volume of CS was calculated using the formula of an ellipse:  $\text{volume} = 0.5 \frac{4\pi R_1 R_2 R_3}{3}$  (where:  $R_1$  = length,  $R_2$  = width and  $R_3$  = depth). The volume of the CS was used as a measure of its development and to integrate the variables of length, width and depth of CS into a single parameter.

In order to compare the frequency at which each species appeared on its own (pioneer), in co-occurrence with *P. areolatum* or in co-occurrence with any other species other than *P. areolatum* (late successional), Chi-squared test were used (Siegel & Castellan 2005). Where the frequencies were found to differ, the standardized residuals were calculated in order to identify which frequencies were lower or higher than would be expected by chance (Haberman 1973). Based in our field observations, and these results, we classified the species as humus epiphytes (most frequently inhabiting CS; Dressler 1981), bark epiphytes (most frequently inhabiting monospecific mats without CS; Dressler 1981) and generalist (inhabiting with equal

frequency mats with or without CS). We did not use the guilds atmospheric and tank bromeliads because all the atmospheric bromeliads are bark epiphytes and the tank bromeliads comprise bark (*e.g.* *T. lucida*), humus (*e.g.* *Racinea ghiesbreghtii*) and generalist (*e.g.* *T. multicaulis*) epiphytes.

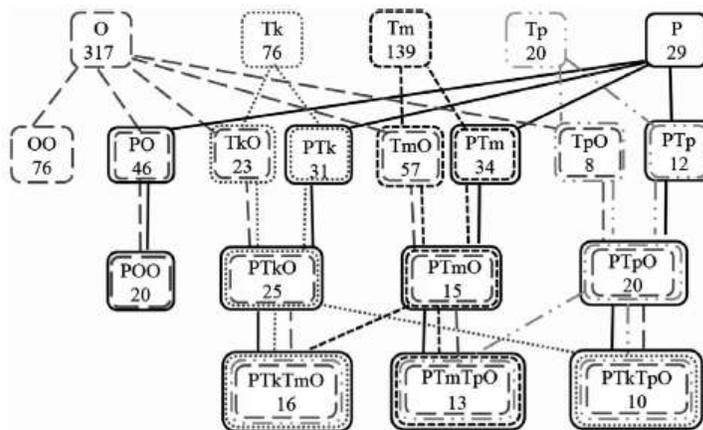
##### *Crown traits and epiphyte abundance determining CS*

A regression tree analysis was used to discriminate the variables that determine the volume of CS in the mats. In this analysis, the independent variables were position on the tree (height, diameter and slope) and cover of the four most frequent epiphytes (*Tillandsia kirchhoffiana*, *T. multicaulis*, *T. punctulata* and *P. areolatum*). The cover of the other species was integrated into the analysis by grouping them as species not associated with *P. areolatum*, species associated with *P. areolatum* and intermediate species (those equally frequent in mats with or without *P. areolatum*). The regression tree analysis divides the data in a binary manner into increasingly more homogeneous groups; each node is defined by the variable that maximizes the variability explained with respect to the response variable (Crawley 2013). The fit of the tree was performed with the R library RPART in R 3.4.3 (Therneau *et al.* 2015; R Core Team 2016). Once the analysis was conducted, the frequency of the epiphyte associations on the terminal branches was explored.

##### *Canopy soil–nutrient capital and epiphyte associations*

Analysis of covariance was used to compare the content of each nutrient (N, C, P, Na, K, Ca and Mg) and pH among the different epiphyte associations. In these analyses, the covariable was CS volume and the factor was epiphyte association (12 compositional groups). Where significant differences were found, multiple comparisons (Tukey) were conducted in order to determine which groups differed (Zar 2010).

To determine whether the nutrient composition of the 12 associations that contained *P. areolatum* was associated with their size and floristic composition, principal components analysis (PCA) was used (Johnson & Wichern 2002). In this analysis, we excluded redundant variables that were strongly correlated ( $r \geq 0.70$ ; Table 2) with other variables (Mg, Na, C/N) and we only use the variables pH, N, C, P, K, Ca, depth and



**Fig. 1.** Frequency of combinations among the four most common species and the other species of epiphyte in the 987 mats studied. In this diagram, the mats are organized from those of one species only (above) to those with more species. The names of the mats correspond to the keys presented in Table 1. The black continuous line corresponds to path of mats with the species *P. areolatum*; grey, dash-dotted line with *T. punctulata*; black, hyphen line with *T. multicaulis*; grey dotted line with *T. kirchhoffiana* and the dashed line with species other than *Phlebodium areolatum*, *Tillandsia multicaulis*, *T. punctulata* or *T. kirchhoffiana*.

volume of CS (Table 2). The PCA was based on the matrix of correlations and performed with the library *ade4* in R (Dray & Dufour 2007; R Core Team 2016).

## RESULTS

### Epiphyte associations and their relationship with crown traits

A total of 987 epiphyte mats were sampled, in which 43 species of epiphyte and immature juvenile plants (*i.e.* *Tillandsia* spp.) were found in different combinations. The most diverse families were *Bromeliaceae* (11 species), followed by *Polypodiaceae* (ten species), *Orchidaceae*, *Dryopteridaceae* (five species each) and *Piperaceae* (four species) (Table 3). The most frequent epiphyte species in the mats (Table 3) were *T. multicaulis* (276 mats), *P. areolatum* (271), *T. kirchhoffiana* (182) and *T. punctulata* (89).

Most of the mats (58.9%) only had one epiphyte species, 26.2% had two, 9.7% had three and 5.2% had between four and six species (Table 3). The most frequent species in mats of a single species were the generalist *T. multicaulis* (139), the humus epiphyte *T. kirchhoffiana* (76), and the bark epiphytes *Pleurothallis platystylis* (60) and *T. butzii* (35). The most frequent in mats of two or more species were *P. areolatum* (123), *T. multicaulis* (79), *T. kirchhoffiana* (48) and *Peperomia alata* (32) (Table 3). There were 579 (58.7%) mats with CS, of which 271 (46.8%) contained *P. areolatum*.

Only for the 11 most frequent species (frequency >10) was it possible to statistically analyse (when significant all  $\chi^2 > 5.99$ ) whether their frequency differed among monospecific association or in co-occurrence with *P. areolatum*, or with other species (Table 3). The humus epiphytes *T. kirchhoffiana*, *T. punctulata* and *Racinaea ghiesbreghtii* were significantly more frequent in association with *P. areolatum*. Furthermore, these three species have a frequency that was lower than would be expected by chance in mats where they co-occurred with a species other than *P. areolatum* (residuals = -4.7, -3.2, -3.65, respectively). Humus species such as *Asplenium praemorsum*, *Hupertzia taxifolia*, *Polypodium furfuraceum* and *Peperomia pseudoalpina* only appeared once and in association with *P. areolatum* (Table 3). *Catopsis nitida*, *C. nutans*, *Melpomene xiphopteroides*, *Pleurothallis platystylis*, *T. butzii* (bark epiphytes) and *T. multicaulis* were more frequent when solitary

and appeared at a lower frequency than would be expected by chance in association with *P. areolatum* (Table 3). *Elaphoglossum glaucum*, *Melpomene leptostoma* and *Oreopanax liebmanii* (bark epiphytes) were rare and only appeared in monospecific association. *Pleopeltis crassinervata* and *Peperomia alata* were significantly more frequent in co-occurrence with species other than *P. areolatum* (Table 3).

The 987 mats were grouped into 20 epiphyte associations (Table 1, Fig. 1), in which the majority were formed by monospecific, infrequent species (key O = 317 mats; Table 1). After this group, the most frequent were monospecific association of *T. multicaulis* (Table 1; 139 mats) and *T. kirchhoffiana* (76 mats), and after these epiphyte associations, the most frequent were associations of two species that did not include *P. areolatum*, *T. multicaulis* or *T. punctulata* (key OO; Table 1). It should be noted that, in concordance with the previous analysis, the monospecific association of the humus epiphytes *T. punctulata* and *P. areolatum* were infrequent (Table 1).

The 20 associations of epiphytes were found on branches of similar diameter ( $21.9 \pm 15.7$  cm;  $F = 1.2$ ,  $df = 19$ , 967,  $P = 0.2$ ). While slope differed in the analysis ( $F = 2.6$ ,  $df = 19$ , 967,  $P = 0.0002$ ), the *post-hoc* test did not isolate the associations of epiphytes that differed among themselves, since most of the explained variance was due to random error (95% of variance was in the error). The associations of epiphytes varied with tree height ( $F = 7.1$ ,  $df = 19$ , 967,  $P < 0.0001$ ); the mats located at greater heights were those with *P. areolatum* and *T. kirchhoffiana* (Fig. 2A). The associations of epiphytes differed significantly in terms of CS volume ( $F = 21.6$ ,  $df = 19$ , 967,  $P < 0.0001$ ); the associations with *P. areolatum* presented a larger CS volume (Fig. 2B).

### Crown traits and epiphyte abundance determining CS

The regression tree analysis indicated that five variables correlate with increased CS volume (Fig. 3). Cover of *P. areolatum* was the most important variable predicting CS volume (Fig. 3). In this first division, the terminal branch A concentrated most mats (76%), including all the monospecific mats, which split from those with CS (Table S1). In summary, the analysis demonstrated that higher volumes of CS (>100 l) were explained mainly by cover of *P. areolatum*, followed by height and cover of *T. kirchhoffiana*.

**Table 2.** Pearson correlation values among the depth and volume of the canopy soil (Volume), pH, C/N ratio and seven nutrients in the canopy soil of 60 epiphyte mats with *Phlebodium areolatum*.

	Volume	pH	P	Na	K	Ca	Mg	N	C	C/N
Depth	<b>0.64</b>	-0.46	-0.06	-0.26	-0.26	-0.45	-0.41	0.03	0.10	-0.07
Volume		-0.30	0.02	-0.17	-0.14	-0.17	-0.16	0.09	0.03	-0.12
pH			0.12	<b>0.59</b>	<b>0.60</b>	<b>0.76*</b>	<b>0.71*</b>	-0.07	0.03	0.11
P				<b>0.44</b>	<b>0.33</b>	-0.02	0.10	<b>0.40</b>	-0.41	-0.44
Na <sup>+</sup>					<b>0.96*</b>	<b>0.48</b>	<b>0.68</b>	<b>0.27</b>	-0.19	-0.26
K						<b>0.53</b>	<b>0.71*</b>	0.21	-0.02	-0.17
Ca							<b>0.82*</b>	0.08	0.05	-0.00
Mg								0.16	0.05	-0.10
C									-0.40	-0.97*
N										<b>0.53</b>

Values in bold indicate significant correlations ( $P < 0.05$ ).

\*Indicates the highest correlated (redundant) variables.

**Table 3.** Species of epiphyte found in 987 mats in a tropical montane cloud forest of central Veracruz, Mexico. For each species, its ecological group (B = Bark epiphyte, H = Humus epiphyte, G = Generalist epiphyte) and its frequency in mats with one to six species is presented, as well as its co-occurrence with *Phlebodium areolatum*. The Chi-squared value corresponds to the comparison of the frequency of species in mats where each species appears alone, or in co-occurrence or not with *P. areolatum*. According to the Haberman residuals, the frequencies of species that tend to be more frequently found alone are highlighted in bold, species that were frequent in the absence of *P. areolatum* are shown in italic and those that were more frequent with *P. areolatum* are underlined.

Species	Epiphyte group	Decreasing number of species in the mat						Co-occurrence with <i>Phlebodium areolatum</i>		
		6 (4)	5 (10)	4 (37)	3 (96)	2 (259)	Alone (581)	No (135)	Yes (271)	$\chi^2$
<b>Pteridophytes</b>										
<b>ASPLENIACEAE</b>										
<i>Asplenium praemorsum</i> Sw.	H	0	0	0	0	1	0	0	1	n.t.
<b>DRYOPTERIDACEAE</b>										
<i>Elaphoglossum seminudum</i> Mickel	B	0	0	0	1	3	2	4	0	n.t.
<i>E. glaucum</i> T. Moore	B	0	0	0	0	0	1	0	0	n.t.
<i>E. muscosum</i> (Sw.) T. Moore	B	0	0	0	1	0	3	1	0	n.t.
<i>E. paleaceum</i> (Hook. & Grev.) Sledge	B	0	1	0	0	1	2	1	1	n.t.
<i>E. sartorii</i> (Liebm.) Mickel	B	0	0	1	0	1	0	1	1	n.t.
<i>Elaphoglossum</i> sp. <sup>c</sup>	–	0	0	0	0	0	1	0	0	n.t.
<b>HYMENOPHYLLACEAE</b>										
<i>Hymenophyllum polyanthos</i> (Sw.) Sw.	B	0	0	0	0	1	1	1	0	n.t.
<b>LYCOPODIACEAE</b>										
<i>Hupertzia taxifolia</i> (Sw.) Trevis.	H	1	0	0	0	0	0	0	1	n.t.
<i>H. linifolia</i> (L.) Trevis.	G	0	2	1	2	3	2	4	4	n.t.
<b>POLYPODIACEAE</b>										
<i>Melpomene xiphopteroides</i> (Liebm.) A.R. Sm. & R.C. Moran	B	0	2	2	8	10	<b>23</b>	10	12	6.53 <sup>†</sup>
<i>M. leptostoma</i> (Fée) A.R. Sm. & R.C. Moran	B	0	0	0	0	0	5	0	0	n.t.
<i>Phlebodium areolatum</i> (Humb. & Bonpl. ex Willd.) J. Smith	H	4	9	28	78	123	29	0	271	n.t.
<i>Pleopeltis crassinervata</i> (Fée) T. Moore	G	0	4	8	9	19	23	32	8	13.55 <sup>†</sup>
<i>Pf. mexicana</i> (Fée) Mickel & Beitel	B	0	0	3	4	3	1	6	4	n.t.
<i>Pf. angusta</i> var. <i>stenoloma</i> (Fée) Farw.	G	0	0	5	1	4	1	8	2	n.t.
<i>Polypodium guttatum</i> Maxon	B	0	0	1	0	3	4	3	1	n.t.
<i>P. furfuraceum</i> Schtdl. & Cham.	H	0	0	0	0	1	0	0	1	n.t.
<i>P. lepidotrichum</i> (Fée) Maxon	G	2	2	3	2	11	11	13	7	1.80 <sup>n.s.</sup>
<i>P. plebeium</i> Schtdl. & Cham.	G	2	1	6	9	10	15	19	9	3.53 <sup>n.s.</sup>
<b>VITTARIACEAE</b>										
<i>Vittaria graminifolia</i> Kaulf.	G	0	0	1	5	11	6	11	6	2.17 <sup>n.s.</sup>
<b>Monocotyledons</b>										
<b>ARACEAE</b>										
<i>Anthurium scandens</i> (Aubl.) Engl. subsp. <i>scandens</i>	H	2	4	5	3	17	6	15	16	4.92 <sup>n.s.</sup>
<b>BROMELIACEAE</b>										
<i>Catopsis nitida</i> (Hook.) Griseb.	B	1	2	2	2	5	<b>22</b>	5	7	15.23 <sup>†</sup>
<i>C. nutans</i> (Sw.) Griseb.	B	0	2	1	4	7	<b>29</b>	10	4	23.77 <sup>†</sup>
<i>C. sessiliflora</i> (Ruiz Lopez Y Pavón) Mez	B	0	1	1	2	1	9	2	3	n.t.
<i>Tillandsia butzii</i> Mez	B	1	0	6	4	12	<b>35</b>	16	7	21.14 <sup>†</sup>
<i>T. kirchhoffiana</i> Wittm	H	3	3	13	39	48	76	24	<u>82</u>	33.54 <sup>†</sup>
<i>T. multicaulis</i> Steudel	G	3	7	17	31	79	<b>139</b>	59	78	37.98 <sup>†</sup>
<i>T. punctulata</i> Schtdl. And Cham	H	2	5	10	31	21	20	12	<u>57</u>	38.85 <sup>†</sup>
<i>T. lucida</i> E. Morren ex Baker	B	0	0	0	0	1	1	1	0	n.t.
<i>T. tricolor</i> Schtdl. And Cham	B	0	0	0	1	3	2	1	3	n.t.
<i>T. viridiflora</i> (Beer) Baker	B	0	0	0	0	1	1	1	0	n.t.
<i>Racinaea ghiesbreghtii</i> (Baker) M.A. Spencer & L.B. Sm.	H	2	3	8	25	28	15	8	<u>58</u>	54.30 <sup>†</sup>
<i>T. kirchhoffiana</i> or <i>T. punctulata</i> <sup>a</sup>	–	0	4	5	24	0	12	25	8	n.t.
<i>Tillandsia</i> sp. <sup>b</sup>	–	0	0	0	5	0	4	5	0	n.t.
<b>ORCHIDACEAE</b>										
<i>Acineta barkeri</i> (Bateman) Lindl.	H	1	0	2	3	1	1	2	5	n.t.
<i>Dichaea glauca</i> (Sw.) Lindl.	G	0	3	2	1	3	0	6	3	n.t.
<i>Maxillaria</i> sp.	B	0	0	1	0	0	0	0	1	n.t.
<i>Peurothallis platystylis</i> Schltr.	B	0	2	1	3	16	<b>60</b>	16	6	60.39 <sup>†</sup>

(continued)

Table 3. (Continued)

Species	Epiphyte group	Decreasing number of species in the mat					Co-occurrence with <i>Phlebodium areolatum</i>			$\chi^2$
		6 (4)	5 (10)	4 (37)	3 (96)	2 (259)	Alone (581)	No (135)	Yes (271)	
<i>Rhynchosstele maculata</i> (La Llave & Lex.) Soto Arenas & Salazar	B	0	0	1	1	2	0	3	1	n.t.
PMPERACEAE										
<i>Peperomia alata</i> Ruiz López Y Pavón	G	0	1	8	11	32	16	33	19	7.26 <sup>a</sup>
<i>P. quadrifolia</i> (L.) Kunth	B	0	0	1	1	3	2	4	1	n.t.
<i>P. galloides</i> Kunth	B	0	1	2	1	2	0	5	1	n.t.
<i>P. pseudoalpina</i> Trel.	H	0	0	0	0	1	0	0	1	n.t.
Dicotyledons										
ARALIACEAE										
<i>Oreopanax liebmanni</i> Marchal	B	0	0	0	0	0	1	0	0	n.t.
CRASSULACEAE										
<i>Sedum</i> sp.	B	0	0	0	0	1	0	1	0	n.t.

n.s. = not significant; n.t. = not tested.

<sup>a</sup>Inferile plants that could belong to *T. kirchhoffiana* or *T. punctulata* without inflorescences.

<sup>b</sup>Small plants (<10 cm) of *Tillandsia* without inflorescences.

<sup>c</sup>Sterile morphospecies of *Elaphoglossum*.

\* $P < 0.05$ .

#### Canopy soil–nutrient capital and epiphyte associations

The nutrient content and pH values were similar among the 12 epiphyte associations with *P. areolatum* (all  $F_{11, 36} < 1.96$  and  $P > 0.05$ ; Table S2). Only Na content ( $F = 2.23$ ,  $df = 11, 36$ ,  $P = 0.03$ ) differed among these epiphyte associations, however the *post-hoc* test did not isolate the epiphyte associations that differed among themselves, and most of the explained variance was due to random error (42% of variance was in the error) (Table S2). The interaction terms between compositional group and mat volume were not different for any nutrient or for pH (all  $F_{1,36} < 1.8$  and  $P > 0.05$ ) (Table S2). The effect of mat volume on nutrient concentration was not significant for most nutrients (all  $F_{1,36} < 3.6$  and  $P > 0.05$ ), but we found a negative effect of mat volume on pH ( $F_{1,36} = 18.47$ ,  $P = 0.0001$ , coefficient =  $-0.13$ ), Ca ( $F_{1,36} = 16.63$ ,  $P = 0.0002$ ; coefficient =  $-0.83$ ) and Mg ( $F_{1,36} = 10.56$ ,  $P = 0.002$ ; coefficient =  $-0.09$ ) (Table S2).

The PCA explained 58.28% of the variance with two components (Fig. 4). The PC1 explained 35.11% of the variance and correlated positively with canopy soil depth ( $r = 0.72$ ) and negatively with K, Ca and pH content ( $r = -0.73$ ,  $r = -0.81$ ,  $r = -0.86$ , respectively). The PC2 explained 23.17% of the variation and correlated positively with P ( $r = 0.75$ ) and N ( $r = 0.76$ ) concentrations, but negatively with that of C ( $r = -0.71$ ) (Fig. 4). The ordering separated the mats by size; the large mats were concentrated in the upper right quadrant, while the small mats were distributed in the left quadrants, and those of intermediate size were grouped in the centre of the graph (Fig. 4).

#### DISCUSSION

The soil is one of the most important components in the development of vegetation and this, in turn, acts to maintain and determine soil properties (Ettema & Wardle 2002; Laliberté

*et al.* 2015). The CS is a histosol composed mainly of parent material that comes from the remains of epiphytes, trees and invertebrates, and its highest abundance occurs in tropical montane cloud forests (Gotsch *et al.* 2016). However, the key epiphyte species for the retention of these histosols and their associated flora remain unknown. In this study, we found epiphyte species that could be generalists appearing in associations with or without CS, species that are associated with CS (late successional – humus epiphytes) and others that are more frequent in associations without CS (pioneer – bark epiphytes). Among the most frequent species, *P. areolatum* seems to play a key role in the retention of CS.

#### Succession

The formation of CS has been recognized as the result of epiphyte succession (Johansson 1974; Brown 1990; Ingram & Nadkarni 1993; Nadkarni 2000; Woods 2017). In general, it has been suggested that colonization of the canopy begins with non-vascular species (bryophytes, lichens) and ends with vascular species (angiosperms and ferns) (Johansson 1974; Catling & Lefkovich 1989; Benzing 1990; Brown 1990; Ingram & Nadkarni 1993; Nadkarni 2000). These latter species of epiphyte inhabit mats with larger biomass and/or generate or retain a larger quantity of CS (Enloe *et al.* 2006; Jian *et al.* 2013; Ortega-Solis *et al.* 2017; Woods 2017). Gotsch *et al.* (2016) highlight that the soils retained by the epiphytes offer habitat and resources to other species within the ecosystem. It is therefore important to identify the species that retain the CS.

Our results are in accordance with previous research in the study area. A study conducted more than 10 years ago in an adjacent zone to the present study area also found that the highest number of species were of the families *Bromeliaceae* and *Polypodiaceae* (Flores-Palacios & García-Franco 2004). In the previous study, 52 species of epiphyte were recorded in the CS of the interior branches of oak trees located both within the

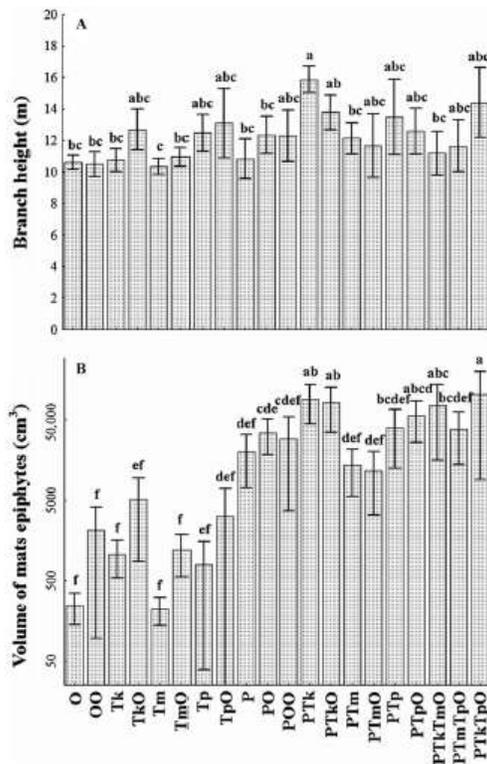


Fig. 2. Mean height (A) of the branches on which were found the 987 epiphyte mats, as well as the volume of the canopy soil (B) of the epiphyte mats for each association of epiphytes. Different letters indicate significant differences (Tukey  $P < 0.05$ ). Lines of dispersion denote  $\pm 1SD$ . The names of the mats correspond to the keys presented in Table 1.

forest and isolated in pastures (Flores-Palacios & García-Franco 2004). The most abundant and frequent species were *T. multicaulis*, *P. areolatum*, *T. kirchhoffiana* and *T. punctulata*. We found a lower number of species, but again *P. areolatum*, *T. kirchhoffiana*, *T. punctulata* and *R. ghiesbreghtii* were the most frequent species. This suggests that the structure of the CS community of epiphytes has been maintained. However, not all of the species seem to form or even inhabit CS; for

example, the bark bromeliads, *Catopsis nutans* and *T. butzii*, were found at higher frequencies alone and with no presence of CS. It is possible that these species cannot germinate in the presence of other species or in mats where succession is advanced and CS is present, and that they germinate better on branches with no epiphytes where there is more available light, but this remains to be tested experimentally.

The large number of mats with monospecific associations (57%) suggests that the phorophytes offer enough space for epiphyte colonization and that these species could reflect the first stage of succession (acting as pioneer species), particularly because CS has not yet formed in these mats. In contrast, the large mats with a high volume of CS could represent the mature stages of the epiphyte community. The maturity of these mats supports the idea that the canopy is a habitat formed by a mosaic of successional stages, where the epiphyte community is found in different stages of development (Johansson 1974; Bennett 1986; Brown 1990; Nadkarni 2000; Woods 2017).

The composition of the mats was highly variable, making it difficult to determine a successional path, beginning from the monospecific mats (without CS) toward the mats with more species (and increasing CS volume). However, the CS volume is a proxy of mat age (Brown 1990), as CS volume increases the species composition and becomes a tangle, because a large number of infrequent, apparently late successional species occur, and we can only recognize a guild of humus epiphytes. Unfortunately, the low frequency of most of these humus species prevented us from definitively saying that these are late successional species or how late in succession they appear.

Solitary individuals of *P. areolatum* and *T. punctulata* were infrequent (<5%), but the former was always present in epiphyte associations with a larger volume of CS; indeed, its cover is the first and most important quantitative criterion that explains the volume of CS. Previous studies have already reported species of *Phlebodium* as humus epiphytes (Brown 1990; Woods *et al.* 2015). The low frequency of solitary individuals (monospecific association) could lead to the conclusion that: (i) it is a facilitator species for the establishment of other epiphytes, or (ii) it is a late successional species, facilitated by the conditions provided by other epiphytes (*e.g.* bromeliads). It is therefore necessary to test experimentally whether *P. areolatum* facilitates the germination and establishment of other epiphyte species. Especially it is necessary to examine those species that are found only or more frequently in association with *P. areolatum*, or, conversely, to test whether other species of

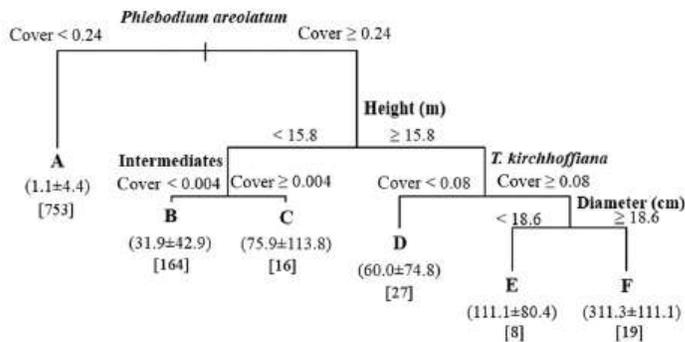
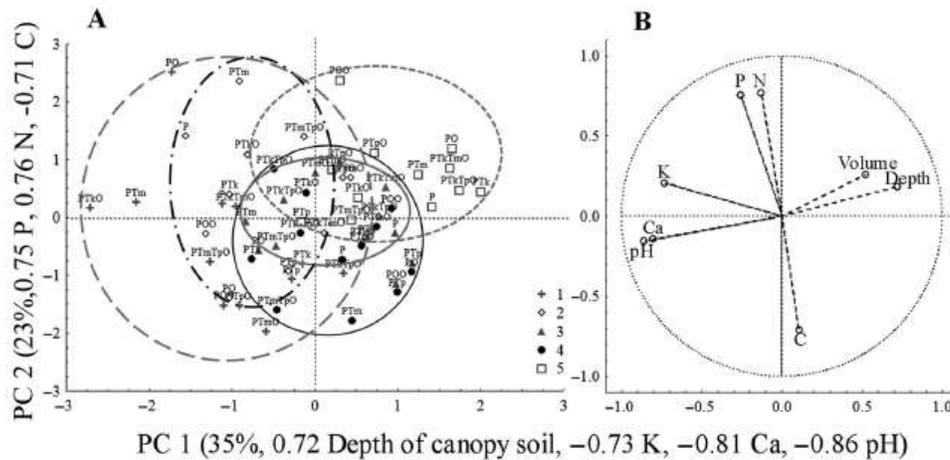


Fig. 3. Regression tree explaining the volume of canopy soil among 987 epiphyte mats in a tropical montane cloud forest of central Veracruz, Mexico. The criterion of division is indicated in the upper part of each division and the mean ( $\pm SD$ ) volume of canopy soil (in litres) is indicated on each terminal branch. Figures in brackets are the number of mats.



**Fig. 4.** Ordering of 60 epiphyte mats based on the nutrient concentration and pH values recorded in their canopy soil. In (A) symbols indicate mat size, largest was 5 (□), followed by 4 (●), 3 (▲), 2 (◇) and finally the smallest 1 (+), ellipses encircle all the mats of each size. Mat size was determined using the quintile distribution of each mat floristic composition. The letters refer to the keys used for each mat type in Table 1. (B) shows the correlation values of each variable with PCA axes.

epiphyte that are solitary (*T. multicaulis*) and/or frequent in associations with CS (e.g. the humus epiphytes *T. kirchhoffiana*, *T. punctulata*) act to facilitate the establishment of *P. areolatum* and subsequently, in co-occurrence, form large quantities of CS.

#### Crown traits and epiphyte abundance determining CS

In some forests, the biomass of the epiphytes and the mass of CS have been estimated (from a single tree) (Hofstede *et al.* 1993) and/or the epiphytes were also collected (Nadkarni 1984; Sillett & Bailey 2003; Flores-Palacios & García-Franco 2004). This destructive method should be avoided in highly vulnerable ecosystems such as the tropical montane cloud forest (Williams-Linera *et al.* 2002; Toledo-Aceves *et al.* 2011, 2014). The epiphyte biomass values recorded in humid forests range from 0.5 to 44,000 kg·ha<sup>-1</sup> (Hofstede *et al.* 1993; Gotsch *et al.* 2016). This epiphyte biomass could intercept and retain 12% of the total leaf litter (Tejo-Haristoy *et al.* 2015). Our study did not estimate the biomass of organic epiphytic material in the mats, but only the volume of the CS; however, this was larger in the presence of *P. areolatum*, and the cover of this species and that of *T. kirchhoffiana* predicted the volume of the mats with CS. Other studies show that branch size is one of the most important factors determining the CS presence or volume (e.g. Brown 1990; Woods *et al.* 2015); but we found that the cover of *P. areolatum* was most important. Branch size is important for the accumulation of epiphytes and CS but the branch itself cannot retain the CS; CS is retained in the rhizosphere created by the epiphytes. The association between mats with CS and *P. areolatum* supports the hypothesis that ferns with a network of rhizomes and roots that prosper in histosols have the capacity to retain organic material and structure the mats in which the CS develops. This structure of the epiphyte mats with CS has been documented in a forest in California,

where inside the CS there is a high biomass of the fern *Polypodium scolieri* (Sillett & Bailey 2003). This species forms mats with CS of up to 1 m in depth (Enloe *et al.* 2006), and it has been suggested that this fern has direct effects on the retention of CS in redwood rainforests (Sillett & Bailey 2003). There are more species of humus epiphyte (aroids, humus ferns; Woods *et al.* 2015) that could be key in the retention of CS, including the tank bromeliads *Fascicularia bicolor* (Ruiz & Pav.) Mez (Ortega-Solis *et al.* 2017) and *Tillandsia monodelpha* (E. Morren) Baker (Woods *et al.* 2015). While epiphyte mats mature, bromeliads with a high capacity for developing clones (e.g. *T. kirchhoffiana*) could act to increase the volume of CS. Experiments in which the most frequent epiphyte species of CS are in interaction could help to determine which species are responsible for the retention of organic material in the canopy.

The inner branches of the trees often present a higher abundance of epiphytes and, in some cases, host up to 52% of the epiphyte biomass (Chen *et al.* 2010), this is possibly due to the longer exposure time, which allows the development of old epiphyte mats (Gentry & Dodson 1987; Brown 1990; Freiberg 1996; Bernal *et al.* 2005; Bergstrom & Carter 2008). In the present study, we found that most of the epiphyte mats (67%) are found on the inner branches of the trees, and that these mats present the largest volume of CS. This stratum of the tree could form a network of available structures that could positively influence the dispersal and recruitment of epiphytes (Toledo-Aceves *et al.* 2012) compared to structures found below the inner branches, such as the trunk. For the epiphytes to form mats in which CS is retained, it is expected that the structures that support them (branches/trunks) will be long-lived and horizontal. However, in this study, the diameter and slope values of the structures on which the studied mats developed were similar, and we found the mats with the largest volumes of CS on branches with diameters  $\geq 18$  cm. Therefore, in this forest, the development of the largest volume of CS occurs on inner

branches, while the more vertical trunk cannot support an accumulation of CS, and the outer branches are too young and have had insufficient time to accumulate CS. For this reason, the larger abundance of CS on inner branches suggests that these structures are sufficiently stable to support the development of the epiphyte community (Brown 1990; Chen *et al.* 2010; Woods *et al.* 2015, 2018). In these mats, the nature of the interactions (competition-facilitation) among epiphytes remains unknown but could be elucidated through experiments featuring co-occurrence.

#### Canopy soil–nutrient capital and epiphyte associations

Previous studies have determined the nutrient content of epiphytes (Nadkarni 1984; Hofstede *et al.* 1993; Hsu *et al.* 2002) and of the CS (Coxson & Nadkarni 1995; Flores-Palacios & García-Franco 2004; Cardelús *et al.* 2009; Chen *et al.* 2010). The nutrient content in the biomass of epiphytes can account for 21–43% of the total nutrients in the aboveground biomass of the forest, although epiphytes constitute less than 2% of this biomass (Hsu *et al.* 2002). Thus, the epiphytes have a large capacity for obtaining resources (minerals brought by wind, water and in leaf litter) and storing these among themselves (Coxson & Nadkarni 1995). The studied CS nutrient content was similar to that found in previous studies in tropical humid forests (Nadkarni 1984; Hofstede *et al.* 1993; Flores-Palacios & García-Franco 2004; Chen *et al.* 2010).

Nutrient availability could also depend on the species that integrate the epiphyte mat or even the phorophyte (Flores-Palacios & García-Franco 2004). That is, the supply and use of nutrients by the epiphyte species will depend on their capacity to retain them over time and on the nutrient sources that surround them (Nadkarni 1984; Hsu *et al.* 2002). The acidic pH in the CS suggests high activity of microorganisms that foster decomposition of the organic matter and, in turn, the absorption and/or liberation of the nutrients contained within (Enloe *et al.* 2006; Tejo-Haristoy *et al.* 2014; De Long *et al.* 2016). For example, the decreases in Ca and Mg in the large mats could be a response to this increased biological activity (De Long *et al.* 2016). This suggests that these nutrients could be being used by other epiphyte species that appear during the succession. While the increasing gradient in N concentration suggests that some microorganisms can act to fix N inside the CS (Nadkarni 1981; Leary *et al.* 2004), this gradient was not related to a specific mat composition but occurred in large mats. On the forest floor the humus and its mineralization dictate P availability (Richardson & Simpson, 2011). The increased P in larger mats also suggests that as epiphyte mats become larger, they can receive a larger dry deposition input and, consequently, increase their content of nutrients that comes from this source (Coxson & Nadkarni 1995). However, the role of epiphytic species on the nutrient content in the CS is unknown. Thus, specific experiments are necessary in which different epiphyte associations are sown under similar conditions (*e.g.* tree identity, similar size of epiphytes) in order to estimate the supply and use of the nutrients in each of the epiphyte species.

#### CONCLUSIONS

In a tropical montane cloud forest of Veracruz, our results identified, for the first time, some of the epiphyte species that

could be implicated in the retention, maintenance and increase in volume of CS. Humus fern species with a network of rhizomes and roots that present few leaves and can survive inside the histosols, appear to be key, as has been observed in other forests (Enloe *et al.* 2006). The data also show that the CS is not a uniform structure in the crown, but rather exists in patches (mats) as a function of the successional development of the community of epiphytes, and that the nutrient content varies among these patches. This suggests different functions of the epiphytes during the formation of the CS. However, specific experiments are necessary in order to: (i) understand whether the rest of the epiphytes benefit in the presence of a key species (*e.g.* increase their growth and/or reproduction); (ii) know the nutrient dynamics during development of the CS; and (iii) determine whether key species play an important role in the germination of other epiphytes in mats with CS or are assisted in this regard by other epiphytes.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

M. Vázquez San Gabriel, V. Vázquez-Reyes, J. M. Saldaña Rojas, J. Tolome, N.F. Alzate-Quintero, E. Hernández-Pérez and V. Leão da Silva assisted during the fieldwork. A. Martínez-Virués and D. Cela-Cadena helped with soil analysis. Thanks to S. Valencia-Avalos, S. H. Salas-Morales and G. Castillo-Campos for their help with the identification of *Fagaceae*. The comments and criticism of K. MacMillan, C. L. Woods and two anonymous reviewers improved the manuscript. Special thanks to A. Guillén-Servent and G. Williams-Linera who granted us permission to work on their property. This research was supported by IDEA WILD (EVR), Instituto de Ecología A.C. (No. 20030-144 of J.G. García-Franco) and a CONACYT scholarship to EVR (No. 274309). This paper is part of the PhD thesis (Natural Sciences) of EVR at the Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

#### SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section at the end of the article.

**Table S1.** Number of mats found in the terminal branches of the regression tree for each association of epiphytes. The key of association corresponds to the description given in Table 1. The final column lists the total number of mats for each association, while for each terminal branch the number is given in parentheses.

**Table S2.** Mean values ( $\pm$ SD) of pH and nutrient contents ( $\text{cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  = mill equivalents per 100 g) of the canopy soil collected in 12 epiphyte associations with *P. areolatum*. The keys of the associations correspond to those of Table 1. At the end we show the *F* values, testing for differences between the associations, the effect of mat volume and the interaction between association-volume (AxV), n.s. indicate no significant differences.

**Table S3.** The Braun–Blanquet cover-abundance scale (Mueller-Dombois & Ellenberg 1974) adapted to the present study.

## REFERENCES

- Bennett B.C. (1986) Patchiness, diversity and abundance relationships of vascular epiphytes. *Selbyana*, **9**, 7–75.
- Benzing D.H. (1990) *Vascular epiphytes*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, p 359.
- Bengstrom B.J., Carter R. (2008) Host-tree selection by an epiphyte orchid *Epidendrum magnoliae* Muhl (Green fly orchid) in an inland hardwood hammock in Georgia. *Southeastern Naturalist*, **7**, 571–580.
- Bernal R., Valverde T., Hernández-Rosas L. (2005) Habitat preference of the epiphyte *Tillandsia recurvata* (Bromeliaceae) in a semi-desert environment in Central Mexico. *Canadian Journal of Botany*, **83**, 1238–1247.
- Bohman S.A., Matelson T.J., Nadkarni N.M. (1995) Moisture and temperature patterns of canopy humus and forest floor soil of a montane cloud forest, Costa Rica. *Biotropica*, **27**, 13–19.
- Brown A.D. (1990) El epifitismo en las selvas montanas del Parque Nacional "El Rey", Argentina: composición florística y patrón de distribución. *Revista de Biología Tropical*, **38**, 155–166.
- Callaway R.M., Reinhart K.O., Tucker S.C., Pennings S.C. (2001) Effects of epiphytic lichens on host preference of the vascular epiphyte *Tillandsia usneoides*. *Oikos*, **94**, 433–441.
- Candelis C.L., MacK M.G., Woods C., Demarco J., Treseder K.K. (2009) The influence of tree species on canopy soil nutrient status in a tropical lowland wet forest in Costa Rica. *Plant and Soil*, **318**, 47–61.
- Catling P.M., Lefkovich L.P. (1989) Associations of vascular epiphytes in a Guatemalan cloud forest. *Biotropica*, **21**, 35–40.
- Chen L., Liu W.Y., Wang G.S. (2010) Estimation of epiphytic biomass and nutrient pools in the subtropical montane cloud forest in the Ailao Mountains, south-western China. *Ecological Research*, **25**, 315–325.
- Coxson D.S., Nadkarni N.M. (1995) Ecological roles of epiphytes in nutrient cycles of forest ecosystems. In: Lowman M. D., Nadkarni N. M. (Eds), *Forest canopies*. Academic Press, San Diego, CA, USA, pp 495–543.
- Crawley M.J. (2013) *The R Book*. Wiley, Chichester, UK, 1051 pp.
- De Long J.R., Dorrepaal E., Kardol P., Nilsson M.C., Teuber L.M., Wardle D.A. (2016) Understorey plant functional groups and litter species identity are stronger drivers of litter decomposition than warming along a boreal forest post-fire successional gradient. *Soil Biology and Biochemistry*, **98**, 159–170.
- Dray S., Dufour A. (2007) The ade4 package: implementing the duality diagram for ecologists. *Journal of Statistical Software*, **22**, 1–20. <https://doi.org/10.18637/jss.v022.i04>. Available from <http://doi.org/10.18637/jss.v022.i04> (accessed 8 November 2016).
- Dressler R.L. (1981) *The orchids natural history and classification*. Harvard University Press, Cambridge, MA, USA, p 332.
- Enloe H.A., Graham R.C., Sillett S.C. (2006) Arboreal histosols in old-growth redwood forest canopies, Northern California. *Soil Science Society of America Journal*, **70**, 408–418.
- Etchevris-Barra J., Goigberg E.G., López-Romero R.M., Padilla-Cuevas J., Alvarado-López J., Hidalgo-Moreno C., Cruz-Huerta M., Guerrero-Peña A., Gutiérrez B., Miranda-Cruz E. (1997) Manual de procedimientos analíticos para análisis de suelos y plantas de laboratorio de fertilidad de suelos. IRE-NAT. Colegio de Posgraduados, Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A.C. México, D.F.
- Ettema C.H., Wardle D.A. (2002) Spatial soil ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, **17**, 177–183.
- Flores-Palacios A., García-Franco J.G. (2004) Effect of isolation on the structure and nutrient budget of oak epiphyte communities. *Plant Ecology*, **173**, 259–269.
- Flores-Palacios A., García-Franco J.G. (2006) The relationship between tree size and epiphyte richness: testing four different hypotheses. *Journal of Biogeography*, **33**, 191–207.
- Flores-Palacios A., García-Franco J.G. (2008) Habitat isolation changes the beta diversity of the vascular epiphyte community in lower montane forest, Veracruz, Mexico. *Biodiversity and Conservation*, **17**, 191–207.
- Flores-Palacios A., Barbosa-Duchateau C.L., Valencia-Díaz S., Capistrán-Barradas A., García-Franco J.G. (2014) Direct and indirect effects of *Tillandsia recurvata* on *Prosopis laevigata* in the Chihuahua desert scrubland of San Luis Potosí, Mexico. *Journal of Arid Environments*, **104**, 88–95.
- Freiberg M. (1996) Spatial distribution of vascular epiphytes on three emergent canopy trees in French Guiana. *Biotropica*, **28**, 345–355.
- Freiberg M. (2001) The influence of epiphyte cover on branch temperature in a tropical tree. In: Linsenmair K. E., Davis A. J., Fiala B., Speight M. R. (Eds) *Tropical forest canopies: ecology and management*. Forestry Sciences. Springer, Dordrecht, The Netherlands, 69 pp.
- Freiberg M., Freiberg E. (2000) Epiphyte diversity and biomass in the canopy of lowland and montane forest in Ecuador. *Journal of Tropical Ecology*, **16**, 673–688.
- Gentry A.H., Dodson C.H. (1987) Diversity and biogeography of neotropical vascular epiphytes. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **74**, 205–233.
- Gotsch S.G., Nadkarni N.M., Amici A.A. (2016) The functional roles of epiphytes and arboreal soils in tropical montane cloud forest. *Journal of Tropical Ecology*, **32**, 455–468.
- Haberman S.J. (1973) The analysis of residuals in cross-classified tables. *Biometrics*, **29**, 205–220.
- Hietz P., Hietz-Seifert U. (1994) *Epifitas de Veracruz: guía ilustrada para las regiones de Xalapa y Los Tuxtlas, Veracruz*. Instituto de Ecología, México, 229 pp.
- Hietz P., Hietz-Seifert U. (1995) Structure and ecology of epiphyte communities of a cloud forest in central Veracruz, Mexico. *Journal of Vegetation Science*, **6**, 719–728.
- Hofstede R.G., Wolf J.H., Benzing D.H. (1993) Epiphytic biomass and nutrient status of a Colombian upper montane rain forest. *Selbyana*, **14**, 37–45.
- Hsu C.C., Horng F.W., Kuo C.M. (2002) Epiphyte biomass and nutrient capital of a moist subtropical forest in north-eastern Taiwan. *Journal of Tropical Ecology*, **18**, 659–670.
- Ingram S.W., Nadkarni N.M. (1993) Composition and distribution of epiphyte organic matter in a neotropical cloud forest, Costa Rica. *Biotropica*, **25**, 370–383.
- Jepson J. (2000) The tree climber's companion. J. Jepson, Rt. 1. Box 546, Longville, MN, USA, 104 pp.
- Jian P.Y., Hu F.S., Wang C.P., Chiang J.M., Lin T.C. (2013) Ecological facilitation between two epiphytes through drought mitigation in a Subtropical Rainforest. *PLoS ONE*, **8**, e64599.
- Johansson D. (1974) Ecology of vascular epiphytes in west African rain forest. *Acta Phytogeographica Sueca*, **59**, 1–130.
- Johnson R.A., Wichern D.W. (2002) *Applied multivariate statistical analysis*. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, USA, 767 pp.
- Labrière E., Grace J.B., Huston M.A., Lambers H., Teste F.P., Turner B.L., Wardle D.A. (2015) How does pedogenesis drive plant diversity? *Trends in Ecology & Evolution*, **28**, 331–340.
- Lambers H., Mougé C., Jallard B., Hingsier P. (2009) Plant-microbe-soil interactions in the rhizosphere: an evolutionary perspective. *Plant and Soil*, **321**, 83–115.
- Leary J.K., Singleton P.W., Borthakur D. (2004) Canopy nodulation of the endemic tree legume *Acacia koa* in the mesic forests of Hawaii. *Ecology*, **85**, 3155–3157.
- Mueller-Dombois D., Ellenberg H. (1974) *Aims and methods in vegetation ecology*. Wiley, New York, USA, 547 pp.
- Nadkarni N.M. (1981) Canopy roots: Convergent Evolution in rain nutrient cycles. *Science*, **214**, 1023–1024.
- Nadkarni N.M. (1984) Epiphyte biomass and nutrient capital of a Neotropical elfin forest. *Biotropica*, **16**, 249–256.
- Nadkarni N.M. (2000) Colonization of stripped branch surfaces by epiphytes in a lower montane cloud forest, Monteverde, Costa Rica. *Biotropica*, **32**, 358–363.
- Nadkarni N.M., Matelson T.J. (1989) Bird use of epiphyte resources in neotropical trees. *The Condor*, **91**, 891–907.
- Nadkarni N.M., Schaefer D., Matelson T.J., Solano R. (2004) Biomass and nutrient pools of canopy and terrestrial components in a primary and secondary montane cloud forest, Costa Rica. *Forest Ecology and Management*, **198**, 223–236.
- Ortega-Solis G., Díaz I., Mellado-Mansilla D., Tello F., Moreno R., Tejo C. (2017) Ecosystem engineering by *Fascicularia bicolor* in the canopy of the South American temperate rainforest. *Forest Ecology and Management*, **400**, 417–428.
- R Core Team (2016) *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available from <http://www.R-project.org/> (accessed 8 November 2016).
- Richardson A.E., Simpson R.J. (2011) Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus. *Plant Physiology*, **156**, 989–996. <https://doi.org/10.1104/pp.111.175448>.
- Sanford W.W. (1968) Distribution of epiphytic orchids in semideciduous tropical forest in southern Nigeria. *Journal of Ecology*, **56**, 697–705.
- Schmidt M.W.L., Torn M.S., Abiven S., Dittmar T., Guggenberger G., Janssens I.A., Kleber M., Kögel-Knabner I., Lehmann J., Manning D.A.C., Nannipieri P., Rasse D.P., Weiner S., Trumbore S.E. (2011) Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature*, **478**, 49–56.
- Siegel S., Castellan N.J. (2005) *Estadística no paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta*. Editorial Trillas, México, D.F., 437 pp.
- Sillett S.C., Bailey M.G. (2003) Effects of tree crown structure on biomass of the epiphytic fern *Polypodium scolieri* (Polypodiaceae) in a redwood forest. *American Journal of Botany*, **90**, 255–261.
- Stanton D.E., Hualpa-Chavez J., Villegas L., Villasante F., Armesto J., Hedin L.O., Horn H. (2014)

- Epiphytes improve host plant water use by micro-environmental modification. *Functional Ecology*, **28**, 1274–1283.
- Stuntz S., Simon U., Zotz G. (2002) Rainforest air-conditioning: the moderating influence of epiphytes on the microclimate in tropical tree crowns. *International Journal of Biometeorology*, **46**, 53–59.
- Tejo-Haristoy C.F., Zabowski D., Nadkarni N. (2014) Canopy soils of Sitka spruce and bigleaf maple in the Queets River Watershed, Washington. *Soil Science Society of America Journal*, **78**, S118–S124.
- Tejo-Haristoy C.F., Zabowski D., Nadkarni N. (2015) Total and epiphytic litter under the canopy of *Acer macrophyllum* in an old-growth temperate rainforest, Washington State, USA. *Canadian Journal of Forest Research*, **45**, 1654–1661.
- Therneau T., Atkinson B., Ripley B. (2015) Recursive partitioning and regression trees, regression and survival trees. Available from <http://CRAN.R-project.org/package=rpart> (accessed 30 April 2017) R package version 4.1–10.
- Toledo-Aceves T., Meave J.A., González-Espinosa M., Ramírez-Marcial N. (2011) Tropical montane cloud forests: Current threats and opportunities for their conservation and sustainable management in Mexico. *Journal of Environmental Management*, **92**, 974–981.
- Toledo-Aceves T., García-Franco J.G., Hernández-Rojas A., MacMillan K. (2012) Recolonization of vascular epiphytes in a shaded coffee agroecosystem. *Applied Vegetation Science*, **15**, 99–107.
- Toledo-Aceves T., García-Franco J.G., Williams-Linera G., MacMillan K., Gallardo-Hernández C. (2014) Significance of remnant cloud forest fragments as reservoirs of tree and epiphytic bromeliad diversity. *Tropical Conservation Science*, **7**, 230–243.
- Valencia-Díaz S., Flores-Palacios A., Rodríguez-López V., Jiménez-Aparicio A.R. (2012) Effects of *Tillandsia recurvata* extracts on the seed germination of *Tillandsia* spp. *Allelopathy Journal*, **29**, 125–135.
- Van der Heijden M.G.A., Bardgett R.D., Van Straalen N.M. (2008) The unseen majority: soils microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, **11**, 296–310.
- Veneklass E., Zagt R., Leerdam A.V., Ek R., Broekhoven G., Vaan Genderen M. (1990) Hydrological properties of the epiphyte mass of a montane tropical rain forest, Colombia. *Vegetatio*, **89**, 183–192.
- Williams-Linera G., Manson R.H., Vem E.I. (2002) La fragmentación del bosque mesófilo de montaña y patrones de uso del suelo en la región oeste de Xalapa, Veracruz, México. *Madera y Bosques*, **8**, 69–85.
- Woods C.L. (2017) Primary ecological succession in vascular epiphytes: the species accumulation model. *Biotropica*, **49**, 452–460.
- Woods C.L., Cardelús C.L., DeWalt S.J. (2015) Microhabitat associations of vascular epiphytes in a wet tropical forest. *Journal of Ecology*, **103**, 421–430.
- Woods C.L., DeWalt S.J., Cardelús C.L., Harms K.E., Yavitt J.B., Wright S.J. (2018) Fertilization influences the nutrient acquisition strategy of a hemiepiphytic aroid in a lowland tropical forest understory. *Plant and Soil*, **431**, 389–399.
- Yeaton R.I., Gladstone D.E. (1982) The pattern of colonization of epiphytes on calabash trees (*Crescentia alata* HBK) in Guacaste Province, Costa Rica. *Biotropica*, **14**, 137–140.
- Zar J.H. (2010) *Biostatistical analysis*. Pearson Education, Upper Saddle River, NJ, USA, 944 pp.

## **CAPÍTULO 3**

**Interacción entre epífitas durante la formación de suelo suspendido: Un experimento  
en un bosque mesófilo de montaña del suroeste de México**

## Resumen

En algunos bosques de montaña, las epífitas se agrupan en carpetas donde comparten rizosfera y forman suelos suspendidos. Se desconoce los costos en adecuación que las epífitas enfrentan al cohabitar en estas carpetas. Se ha documentado ampliamente que en estas carpetas las epífitas desarrollan suelo suspendido de tipo histosol rico en nutrientes. En un bosque mesófilo de montaña del centro de Veracruz, México, se hizo un experimento factorial completo con la presencia/ausencia de ramets de *Phlebodium areolatum*, *Tillandsia kirchoffiana*, *T. multicaulis* y *T. punctulata* sembrados en macetas de plástico y monitoreadas en el dosel por dos años. Con este experimento: a) demostramos que algunas especies de epífitas contribuyen en la formación de suelo suspendido, b) evidenciamos su rol en la composición de nutrientes de éste y c) medimos los costos de adecuación que enfrentan las epífitas al cohabitar en carpetas. La formación de suelo suspendido ocurre con mayor magnitud cuando está presente *P. areolatum*. El capital de nutrientes del suelo suspendido no cambia con la composición de epífitas, pero puede estar influenciado por la microbita y algunos nutrientes disminuyen con la presencia de las epífitas. Los costos de adecuación muestran que las especies compiten en las carpetas, disminuyendo su supervivencia y su crecimiento, pero la capacidad competitiva es diferente entre las especies, así que se establecen interacciones asimétricas. Concluimos que *P. areolatum* es un ingeniero del ecosistema que crea la retención del suelo suspendido, pero es un mal competidor, lo que coincide con el modelo de sucesión por facilitación. El suelo suspendido es un componente de lenta creación y sus nutrimentos no dependen de la flora epífita. En las carpetas de epífitas, las interacciones dominante son de competencia, pero también hay facilitación.

**Palabras claves:** Competencia, Facilitación, Interacciones planta-planta, *Phlebodium*, *Tillandsia*, Sucesión.

## Introducción

El dosel forestal es un subsistema del bosque definido por el espacio creado por las estructuras superiores (i.e. tronco, ramas, hojas, etc) de los árboles, la flora y fauna propia; en este subsistema ocurren intercambios de materia y energía con la atmósfera (Nankarni *et al.* 2004). Las epífitas integran una parte importante del dosel y su ausencia disminuye la diversidad del bosque (Cruz-Angón & Greenberg 2005). Este grupo de plantas mantienen interacciones directas con los árboles y entre ellas. Sin embargo, los costos y beneficios de las interacciones entre epífitas y con sus hospederos están muy poco estudiados, pero se ha sugerido que ocurren efectos tanto negativos como positivos (e.g., Flores-Palacios *et al.* 2014). Jian *et al.* (2013) documentaron efectos de facilitación entre especies de helechos epífitos al mitigar la sequía y aumentar así la supervivencia de una especie. No obstante, se han encontrado experimentalmente efectos de competencia entre bromelias atmosféricas, como alelopatía interespecífica, que limita el establecimiento de las especies epífitas vecinas (Valencia-Díaz *et al.* 2012), interferencia en la llegada de semillas a las ramas y efectos directos en su mortandad (Chaves & Rossatto 2020).

El dosel es un ambiente que restringe el desarrollo de las epífitas porque ofrece sustratos escasos, dispersos y sin acceso al banco de nutrientes y agua del suelo del bosque, así que efectos positivos y negativos de las interacciones planta-planta podrían facilitar o limitar el acceso a esos recursos. En algunos bosques de montaña se desarrollan carpetas de epífitas (e.g., Woods *et al.* 2015), que se definen como agrupaciones de epífitas que comparten una rizosfera y están separadas de otras rizosferas (Victoriano-Romero *et al.* 2020). Estas carpetas comienzan con una sola especie y conforme pasa el tiempo se agregan especies y pueden o no acumular suelo suspendido (Victoriano-Romero *et al.* 2020). Al

compartir rizosfera, las carpetas de epífitas son un sistema adecuado para entender los efectos mutuos entre las especies de las comunidades de epífitas.

Las carpetas de epífitas son abundantes en los bosques tropicales húmedos de montaña, donde llegan a tener grandes cantidades de biomasa viva y de suelo suspendido entre sus raíces (Benzing 1990; Coxson & Nadkarni 1995; Gotsch *et al.* 2016). De las carpetas de epífitas se ha estudiado la biomasa, la frecuencia y asociación de las especies que las integran y su posible papel sucesional (Flores-Palacios *et al.* 2004; Victoriano-Romero *et al.* 2020; Woods *et al.* 2015). Se ha destacado que el suelo suspendido puede tener una alta biomasa y contener altas concentraciones de diversos nutrientes (e.g., P, N, Mg, Ca, K, Na; Coxson & Nadkarni 1995) y agua (Veneklass *et al.* 1990). La contribución de diferentes fuentes a estos nutrientes es desconocida (e.g., hojas, flores, frutos de los árboles y de las mismas epífitas, excretas y restos de animales, la microflora del suelo suspendido). La acumulación de suelo suspendido en el dosel (i.e., un histosol), puede mejorar las condiciones para la subsistencia de las epífitas y del árbol (e.g., Leary *et al.* 2004). Por lo tanto, se esperaría que especies de epífitas que son frecuentes en las carpetas con suelos suspendidos tengan mejores tasas de crecimiento y supervivencia que sobre otros sustratos (e.g., corteza desnuda), debido al amortiguamiento ambiental (mayor humedad y menor temperatura) y al suministro de nutrientes (Ortega-Solís *et al.* 2017). No obstante, el alto contenido de nutrientes del suelo suspendido contrasta con el bajo contenido nutricional de algunas epífitas abundantes en carpetas con suelo suspendido (e.g., *Tillandsia* spp., Flores-Palacios & García-Franco 2004; Flores-Palacios *et al.* 2014). Así que es posible que diferentes composiciones de especies permitan la creación de diferentes rizosferas donde el microbiota retiene nutrientes. Sin embargo, poco se sabe sobre la identidad de las especies retenedoras de suelos suspendidos, su aportación y/o aprovechamiento de los nutrientes, así como los efectos de

las interacciones en el desarrollo de las plantas epífitas frecuentes de las carpetas con suelos suspendidos.

En un bosque de montaña del sureste de México las especies de epífitas más abundantes y frecuentes de los suelos suspendidos son *Tillandsia kirchhoffiana* Wittm, *Tillandsia multicaulis* Steudel, *Tillandsia punctulata* (Bromeliaceae) y *Phlebodium areolatum* (Humb. & Bonpl. ex. Willd) J. Smith (Polypodiaceae) (Flores-Palacios & García-Franco 2004; Victoriano-Romero *et al.* 2020). Estas especies de *Tillandsia* habitan en carpetas de epífitas con o sin suelo suspendido, *T. multicaulis* es más frecuente en carpetas sin suelo suspendido y las otras dos bromelias son más frecuentes en carpetas con suelo suspendido (Victoriano-Romero *et al.* 2020). Además, la cobertura de *Phlebodium areolatum* está asociada positivamente con el volumen del suelo suspendido de las carpetas (Victoriano-Romero *et al.* 2020), lo que sugiere que *P. areolatum* es una especie clave en la retención de los suelos suspendidos. Sin embargo, se desconoce cómo es el proceso de retención del suelo suspendido y como es la interacción entre las especies frecuentes de este histosol. Así que es necesario experimentar si en presencia de *P. areolatum*, un helecho con un amplio sistema de rizomas suculentos, se retiene materia orgánica que forme suelo suspendido, cómo es el contenido de nutrientes de este suelo suspendido y el desempeño de las especies cuando ocurren juntas o no.

En este trabajo se demostró experimentalmente si la co-ocurrencia entre *Phlebodium areolatum*, *Tillandsia kirchhoffiana*, *T. multicaulis* y *T. punctulata* ocasiona: a) diferentes tasas de acumulación de materia orgánica, b) diferentes concentraciones de nutrientes en el suelo suspendido y c) los costos en la adecuación entre estas especies por la interacción . Hipotetizando que en presencia de *Phlebodium areolatum* serán mayores, a) las tasas de

acumulación del suelo suspendido, b) el contenido nutricional del suelo suspendido y c) el crecimiento y supervivencia de las especies.

## **Material y métodos**

### **Área de estudio**

El experimento fue realizado durante dos años (Mayo 2017 -Mayo 2019) en un fragmento de bosque mesófilo de montaña (11 ha), localizado en el municipio de San Andrés Tlanelhuayocan, Veracruz, México (19°31'05" N; 97°00'16" W; 1632-1653 m a.s.l). La temperatura media anual en el área es de 14°C y la precipitación de 1650 mm. La vegetación en la región está dominada por *Quercus* spp. (Fagaceae), *Liquidambar macrophylla* Oerst. (Hammamelidaceae) y *Clethra macrophylla* M. Martens & Galeotti (Clethraceae) (Williams-Linera *et al.* 2002; Flores-Palacios & García-Franco 2008). En esta zona se han registrado 123 especies epífitas vasculares, las familias con más especies son Orchidaceae (40), Bromeliaceae (20), Polypodiaceae (10) y Dryopteridaceae (5) (Flores-Palacios & García-Franco 2008; Victoriano-Romero *et al.* 2020). Las especies más frecuentes en las carpetas de epífitas son *Tillandsia multicaulis*, *T. kirchhoffiana*, *T. punctulata* y *Phlebodium areolatum* (Flores-Palacios & García-Franco 2004; Victoriano-Romero *et al.* 2020).

### **Diseño experimental**

El experimento se inició en el periodo 17 de mayo - 5 de junio de 2017. Se seleccionaron diez árboles de *Quercus leiophylla* A. DC para poner las unidades experimentales, controlado el efecto del árbol en ellas (e.g., Tejo-Haristoy *et al.* 2014). Se usó esta especie de encino

porque es de las más abundantes y grandes en el bosque, son frecuentes las carpetas de epífitas y es seguro para escalarlo (Victoriano-Romero *et al.* 2020). En el sotobosque se buscaron carpetas de epífitas monoespecíficas de *Tillandsia kirchhoffiana*, *T. multicaulis*, *T. punctulata* y *Phlebodium areolatum*. Las carpetas se encontraron en el suelo o sobre ramas tiradas y en buenas condiciones al no tener señales de daños por ruptura o herbívora y de pudrición. Las epífitas de estudio desarrollan numerosas rosetas clonales (*Tillandsia*) o tiene rizomas con múltiples ejes de crecimiento (*Phlebodium areolatum*) (Hoshizaki & Moran 2001; Ortega-Solís *et al.* 2017). De cada especie se usaron diez carpetas monoespecíficas para obtener ocho rosetas y rizomas, excepto para *T. multicaulis* que se usaron 16 carpetas monoespecíficas. El diseño experimental consistió en 16 tratamientos en macetas, 15 compuestos por la presencia/ausencia de cada especie de planta asignadas al azar a cada tratamiento y un control sin plantas (4 especies  $\times$  2 niveles de presencia/ausencia por especie, Cuadro S1). Cuando la variable de respuesta fue el peso seco de hojarasca y suelo suspendido, se usaron los 16 tratamientos y sólo ocho cuando la variable fue la supervivencia o crecimiento de las epífitas (Cuadro S1). Las divisiones de cada planta se cortaron con tijeras para poda (modelo T-45P, 3/4", PRETUL) y en el punto de corte se aplicó cloruro de benzalconio (Merthiolate, BAYER) como desinfectante. Inmediatamente después de cortadas las divisiones fueron sorteadas a un tratamiento y se colocaron dentro de una maceta colgante de plástico (9.5" de diámetro, Figura S1). Cada división se sujetó a la maceta con cinta plástica de amarre (No. 7550, 30m, SANTUL), dejando un espacio  $\leq$  2 cm entre la maceta y la planta, una vez que todas las divisiones estaban sujetas equidistantemente se agregó a la maceta piedra volcánica (tezontle rojo  $\leq$  2cm de diámetro) que sirvió de soporte a las divisiones (Figura S1). Este tipo de piedra es usado en jardinería ya que tiene poco peso, no se degrada fácilmente y da consistencia y soporte a las plantas en maceta (Vargas-Tapia

*et al.* 2008). A cada división se le midió su tamaño inicial (Cuadro S2), a los rizomas de *Phlebodium areolatum* la longitud y el diámetro, y a las especies de *Tillandsia* la longitud a la hoja más larga de las rosetas (Hoshizaki & Moran 2001; López-Villalobos *et al.* 2018). Finalmente se ascendió a los árboles seleccionados con el método de una cuerda (Jepson 2000) y las macetas se subieron y se fijaron en las ramas intermedias del árbol (promedio  $13 \pm 2$  m de altura, mínima = 8.8 m, máxima = 17 m; de aquí en adelante se reportan promedio  $\pm$  desviación estándar), ya que es el sitio del dosel donde se concentra la mayor presencia de suelo suspendido (Victoriano-Romero *et al.* 2020). Las macetas se sujetaron a las ramas con alambre galvanizado y cinchos de plástico (SANTUL). Todas las unidades experimentales con divisiones de una misma planta fueron colocadas en el mismo árbol. Cada dos meses se hicieron ascensos regulares (bimensuales) a los árboles para revisar las macetas y asegurarse que se mantenían en sujetas en las ramas y registrar la supervivencia de las divisiones, y el desarrollo de hojas, hojas fértiles o inflorescencias. En los casos de muerte de una planta, se anotó el evento de mortalidad y se substituyó por otra de la misma especie con características similares a las del inicio del experimento para no desbalancear el experimento de retención de hojarasca y suelo suspendido, ni el efecto mutuo entre las especies de epífitas.

Para tener una estimación de la biomasa y nutrientes que podrían tener las plantas epífitas sembradas al inicio del experimento, se colectaron y midieron los mismos parámetros de tamaño inicial de las plantas a una muestra de 30-35 divisiones de cada especie epífita semejantes a las divisiones experimentales. Una vez obtenidos los datos de tamaño, las divisiones se colocaron en un horno (Barnstead, 3516M, Waltham, Massachusetts, USA) a  $70^{\circ}$  C por una semana, posteriormente fueron pesadas en una balanza analítica (Sartorius CP1245, precisión  $\pm 0.001$  gr) para obtener el peso seco. El peso registrado se usó para generar una función y así estimar el peso seco original de las divisiones de cada especie

sembradas en el experimento y poder calcular su tasa relativa de crecimiento al final del experimento. Posteriormente las divisiones de cada especie se separaron en raíces (*Tillandsia*), raíces/rizoma (*Phlebodium areolatum*) y hojas para realizarles un análisis de nutrientes. El material vegetal de cada estructura/especie se molió (IKA mill, A11 basic, Wilmington, North Carolina, USA), tamizó (No.18; mesh size = 1.0 mm) y fue colocado en bolsas plásticas de polietileno hasta su análisis químico. A cada muestra se le midió el pH con un potenciómetro (Conductronic, PC45, Santa Cruz Buenavista, Puebla, México) usando 5 g de muestra y 20 ml de agua destilada (proporción 1:4). El N y C se determinaron con 1g de cada muestra, utilizando el método de micro-Kjeldahl (Etchevrs Barra *et al.* 1997) en un analizador elemental (LECO, Truspec Cn8051, St. Joseph, Michigan, USA). Los cationes se determinaron después de una digestión ácida (Solución 2 ml 70% HClO<sub>4</sub>, 4 ml of 70% HNO<sub>3</sub>) de 0.5 g de muestra, por fotometría de llama (Na y K)( CORNING, 410, CB1, Cambridge, UK), absorción atómica (Mg y Ca) (VARIAN, AA240-f5, Santa Clara, CA, USA) y el P por colorimetría atómica (Método Vanadato/molibdato) (Thermo-Fisher Spectronic, 4001/4, Waltham, Massachusetts, USA)(Etchevrs-Barra *et al.* 1997).

A finales de abril e inicios de mayo de 2019 se bajaron todas las macetas y se transportaron en bolsas plásticas (60 × 90 cm) al laboratorio de Ecología Funcional (INECOL A.C., Xalapa, Ver. México). En laboratorio cada maceta se manipuló individualmente. Se retiró la piedra volcánica y la hojarasca/materia orgánica colectada dentro de las rosetas de las plantas de *Tillandsia*, estos componentes se desecharon y no se usaron en análisis subsecuentes. Mientras que la hojarasca almacenada en la maceta, el suelo suspendido retenido entre las raíces de las cuatro especies de epífitas y el material vegetal vivo de cada especie (Figura S2) fueron separadas individualmente en bolsas de papel etiquetadas para secarlas en un horno a 70° C (Barnstead, 3516M, Waltham, Massachusetts, USA) por una

semana. Posteriormente, se obtuvo el peso (Sartorius CP1245, precisión  $\pm 0.001$  gr) de cada muestra para determinar la biomasa seca de cada especie, hojarasca y suelo suspendido. El contenido nutricional del suelo suspendido y hojarasca de las macetas se analizó siguiendo los procedimientos antes descritos mezclando las diez réplicas de cada tratamiento.

### **Análisis de datos**

La estimación de la biomasa seca inicial de las divisiones sembradas en el experimento, se obtuvo por medio de modelos de regresión con el peso seco de las divisiones colectadas para cada especie. Primero se realizó una matriz de correlación utilizando los valores originales y los transformados a logaritmo natural (Cuadro S3). Después de explorar las correlaciones se generó un modelo de regresión (Cuadro S4) (Zar 2010) para la estimación de la biomasa seca para cada especie de epífita. El modelo de regresión de cada especie se hizo con los logaritmos naturales de longitud/altura y de peso seco pues estas variables fueron la de mayor correlación (todas con un  $r > 0.70$ ) (Cuadro S3, Figura S3).

### *Retención y contenido de nutrientes del suelo suspendido*

Para conocer el efecto de las cuatro especies de epífitas en la retención de materia orgánica se hicieron análisis de varianza con el modelo de bloques aleatorizados completos (Zar 2010). Un análisis se hizo con el volumen de hojarasca retenida en la maceta, donde probamos la llegada de hojarasca a las unidades experimentales, y otro con el suelo suspendido retenido entre las raíces de las epífitas, donde probamos la capacidad de las epífitas de retener suelo suspendido. En estos análisis las variables dependientes fueron el peso seco de la hojarasca

o de suelo suspendido, el árbol fue el bloque (un factor aleatorio) y la presencia/ausencia de cada una de las especies fueron los factores fijos (Zar 2010).

Para conocer la asociación entre la composición de nutrientes de las especies de plantas (hojas, raíces/rizoma), la hojarasca y los suelos suspendidos retenidos en los 16 tratamientos (Cuadro S5), se realizó un análisis de componentes principales (Johnson & Wichern 2002). El análisis se realizó a partir de la matriz de correlación (coeficiente de correlación de Pearson, Cuadro S6) de los contenidos de nutrientes (variables conjuntas, Cuadro S5). Para el análisis de componentes no se usaron las variables %C y %C/N (Cuadro S6) porque están fuertemente correlacionadas entre sí o con otras y resultaban redundantes. El ACP fue realizado con la librería *ade4* en R (Dray & Dufour 2007).

#### *Efectos mutuos entre epífitas*

Para probar los efectos debido a la interacción entre las especies de epífitas se analizaron para cada especie la supervivencia y la tasa relativas de crecimiento (TCR). Para cada especie, la supervivencia se analizó con modelos de riesgo proporcional de Cox (Cox-proporcional Hazard; Kleinbaum & Klein 2005; Crawley 2013) usando la librería *survival* en R (Therneau 2015). Por ejemplo, para analizar la supervivencia de *P. areolatum*, los factores fueron la presencia/ausencia de las tres especies de *Tillandsia* (3 especies  $\times$  2 niveles = 6 tratamientos).

La fórmula general de los modelos fue  $h(t) = \frac{1}{\mu}$ , donde la función de densidad condicional ( $h$ ) en el tiempo ( $t$ ) está dada por el cociente de; 1 que es la función de densidad (la probabilidad de morir en un intervalo de tiempo pequeño) y  $\mu$  es la función de supervivencia (la proporción de individuos aún vivos en un momento) (Kleinbaum & Klein 2005; Crawley 2013).

La tasa relativa de crecimiento (TCR) de cada individuo se calculó como el cociente de la diferencia entre la biomasa colectada al final del experimento y la biomasa inicial, entre

la biomasa inicial: 
$$TRC = \frac{B_1 - B_2}{B_2}$$

En donde TRC es la tasa relativa de crecimiento en peso seco (g);  $B_1$  y  $B_2$  son las biomasa inicial y final, respectivamente. De esta forma, la tasa de crecimiento relativo toma un valor positivo cuando creció la planta y negativo cuando decreció y se controla el efecto del tamaño inicial de la planta en el crecimiento. La biomasa inicial fue estimada con los modelos de regresión antes expuestos (Cuadro S3). El efecto de la presencia/ausencia de cada una de las especies simpátricas en la TCR de cada especie fue probado con un análisis de varianza con el modelo de bloques aleatorizados completos (Zar 2010). En este análisis la variable dependiente fue el TCR de cada especie, el árbol fue el bloque (un factor aleatorio) y la presencia/ausencia de cada una de las especies fue el factor fijo.

Para estimar los costos de adecuación relativa ( $\hat{w}$ ) de las interacciones entre las especies, calculamos la adecuación como el cociente de la supervivencia o TCR de la especie en presencia/ausencia de otra especie con su supervivencia o TCR observada creciendo sola (el control de cada especie de epífita).

## **Resultados**

### **Retención y contenido de nutrientes del suelo suspendido**

Con excepción del efecto de *T. kirchhoffiana* y de *T. punctulata* (Cuadro 1), la hojarasca retenida sobre las macetas no difirió entre factores principales, ni entre las interacciones (Cuadro 1). En presencia de *T. kirchhoffiana* ( $29.26 \pm 13.25$  g) y de *T. punctulata* ( $29.15 \pm$

12.18 g) la hojarasca que se almacenó sobre las macetas fue menor que cuando estas especies estuvieron ausentes (sin *T. kirchoffiana* =  $34.82 \pm 13.90$  g, sin *T. punctulata* =  $34.93 \pm 14.80$  g). *Phlebodium areolatum* fue el único que influyó en la retención de suelo suspendido entre las raíces de las epífitas (Cuadro 1), cuando este helecho está presente el suelo suspendido acumulado fue de  $11.59 \pm 5.80$  g y en su ausencia fue de  $2.65 \pm 1.70$  g.

Con dos componentes principales se explicó el 73.4% de la varianza (Cuadro 2). El componente 1 se correlacionó negativamente con el pH ( $r = -0.93$ ), Ca ( $r = -0.81$ ), y %N ( $r = -0.81$ ). Mientras que el componente 2 se correlacionó positivamente con el P ( $r = 0.88$ ). A lo largo del PC1 del ordenamiento se separan a la derecha las hojas y raíces de las *Tillandsia*, que son nutricionalmente más pobres; mientras que a lo largo del PC2 arriba se separan los elementos con mayor concentración de nutrientes (hojas y rizomas de *Phlebodium areolatum*) (Figura 1). La hojarasca y el suelo del dosel se separan entre sí, siendo éste último nutricionalmente más rico. Además, ni las muestras de hojarasca, ni las del suelo del dosel se disgregaron en función de los tratamientos de co-ocurrencia, únicamente se separa el suelo del dosel del tratamiento control (sin plantas), donde hay mayor concentración de nutrientes (Figura 1).

### **Efectos mutuos entre epífitas**

A lo largo de los 707 días del experimento murieron seis plantas de *T. kirchoffiana*, ocho de *T. punctulata*, 12 de *T. multicaulis* y 25 de *P. areolatum*, incluyendo las divisiones que reemplazaban a otras. La supervivencia de cada especie de epífita osciló entre el 50-100% entre todos los tratamientos (Cuadro 3). En general no ocurrió mortalidad en la mayoría de las especies en algún tratamiento (Cuadro 3) por lo cual en el análisis de supervivencia no se

podieron probar los efectos de interacciones dobles o triples (Cuadro 3, Cuadro 5). La supervivencia de *Phlebodium areolatum* sólo fue influenciada por *T. punctulata* y la interacción *T. kirchhoffiana* × *T. multicaulis* (Cuadro 5a). La supervivencia de *P. areolatum* fue menor en presencia de *T. punctulata* (71 %) que en su ausencia (88% de supervivencia (Cuadro 5a). El efecto de la interacción *T. kirchhoffiana* × *T. multicaulis* en la supervivencia de *P. areolatum* muestra que esta es mayor sólo cuando estuvo ausente *T. multicaulis* (Tukey,  $P < 0.05$ ) (Figura 2).

La supervivencia de *Tillandsia kirchhoffiana* fue afectada (Cuadro 5b) por *T. multicaulis* (presencia 91%, ausencia 95% de supervivencia), *T. punctulata* (presencia 89%, ausencia 98% de supervivencia).

Para las plantas de *T. multicaulis*, *P. areolatum* (presencia 85%, ausencia 91% de supervivencia) y *T. punctulata* (presencia 81%, ausencia 96% de supervivencia) afectaron su supervivencia (Cuadro 5c). Por último, la supervivencia de las plantas de *T. punctulata* sólo dependió de *P. areolatum* (presencia 92%, ausencia 94% de supervivencia, Cuadro 5d).

Durante el experimento las plantas de *Tillandsia* desarrollaron clones (40 de *T. kirchhoffiana*, 39 de *T. punctulata* y 19 de *T. multicaulis*), inflorescencias (14 de *T. multicaulis* y tres de *T. punctulata*) e incluso algunos frutos (11 de *T. multicaulis*, tres de *T. punctulata*) y semillas (tres de *T. punctulata* con cuatro cápsulas y una cápsula de *T. multicaulis*). Todos los rizomas de *Phlebodium areolatum* desarrollaron hojas (abril-mayo) y en el primer año el 80% de las plantas tuvieron hojas fértiles.

Con la excepción de *T. kirchhoffiana*, las tasas relativas de crecimiento fueron similares en presencia de las otras especies de epífitas (Cuadro 4, Cuadro 5). La TRC de las plantas de *T. kirchhoffiana* fue menor cuando estaban con *T. multicaulis* (Cuadro 4, Cuadro 6, presencia  $1.1 \pm 1.1$ , ausencia  $2.0 \pm 1.8$ ), y con *T. punctulata* (Cuadro 4, Cuadro 6, presencia

1.1 ± 1.4, ausencia 2.0 ± 1.5) y también fue afectada por la interacción entre estas dos especies (Cuadro 6). La interacción muestra que son más fuertes los efectos de *T. punctulata* sobre *T. kirchhoffiana* que los de *T. multicaulis* ya que la TCR de *T. kirchhoffiana* fue mayor en presencia únicamente de *T. multicaulis* (1.8 ± 1.8) o cuando se encontró solitaria (1.8 ± 2.0) que no difieren entre sí (Tukey,  $P < 0.05$ ) y si difieren de la TCR cuando *T. kirchhoffiana*, estuvo en interacción simultánea con *T. multicaulis* y *T. punctulata* (1.0 ± 1.5) o únicamente con *T. punctulata* (0.9 ± 1.4) que tampoco difieren entre sí.

Tanto para la supervivencia como para la tasa relativa de crecimiento, la adecuación de todas las especies es reducida al interactuar con otra especie (Figura 3). En general la magnitud de los costos de adecuación en supervivencia son menores que en la TCR (Figura 3), pero biológicamente son más importantes porque provienen de la muerte de las plantas, mientras que los de TCR señalan una reducción en el crecimiento.

Los costos de adecuación señalan que las interacciones son competitivas y asimétricas. *Phlebodium areolatum* es más afectado de lo que afecta a otras especies, especialmente en supervivencia (Figura 3A). *Tillandsia kirchhoffiana*, sufre menores costos de adecuación de los que ocasiona, con excepción de que no afecta la TRC de *T. multicaulis* (Figura 3B). *Tillandsia multicaulis* tiene menores costos de los que ocasiona, especialmente al reducir la TRC de las otras especies y tiene pocos costos en su TRC (Figura 3B). Finalmente *T. punctulata* reduce la adecuación de las otras especies de *Tillandsia*, pero su adecuación es reducida por *Phlebodium areolatum*.

## **Discusión**

Los efectos de las interacciones entre plantas determinan diversos aspectos de sus comunidades (Callaway 1995). Efectos positivos o negativos influyen sobre las etapas

cruciales de establecimiento y mantenimiento de las comunidades de epífitas (Valencia-Díaz *et al.* 2012; Jian *et al.* 2013; Chaves & Rossatto 2020). Sin embargo, la mayor parte de la evidencia viene de bromelias atmosféricas en ambientes secos (Valencia-Díaz *et al.* 2012; Chaves & Rossatto 2020). En los bosques de montaña, las carpetas de epífitas son sistemas donde las plantas comparten rizosfera, amplían el área de sustrato más allá de la ramas, establecen interacciones y retienen suelo suspendido. En este trabajo experimental encontramos especies que facilitan la retención de suelo suspendido. Mientras que el contenido de nutrientes del suelo suspendido y de la hojarasca acumulada son diferentes y no mostraron una relación con las composiciones experimentales. Los efectos en la adecuación muestran que en la carpetas de epífitas, existe competencia.

### **Formación del suelo suspendido**

El suelo suspendido ha sido reconocido como producto sucesional de las comunidades de epífitas y es más abundante en las ramas interiores de los árboles (Johansson 1974; Brown 1990; Ingram & Nadkarni 1993; Nadkarni 2000; Woods *et al.* 2015; Victoriano-Romero *et al.* 2020). Entre las especies de epífitas con mayor abundancia en los suelos suspendidos predominan los helechos con un sistema amplio de rizomas suculentos (Sillett & Bailey 2003; Flores-Palacios & García-Franco 2004; Enloe *et al.* 2006; Victoriano-Romero *et al.* 2020), lo que sugiere un papel fundamental en la retención del suelo suspendido. Pero sólo existen evidencias correlacionales de especies de helechos asociadas al humus de las carpetas (Brown 1990; Woods *et al.* 2015) o de como la cobertura de estos predicen el volumen del suelo suspendido de las carpetas de epífitas (Victoriano-Romero *et al.* 2020). Nuestros resultados confirman que *Phlebodium areolatum* retiene la materia orgánica que formará el suelo suspendido y en presencia de este helecho se retiene 4.4 veces más que en su ausencia.

El sistema de rizomas y raíces de los helechos (epífitas de humus, Dressler 1981; Woods *et al.* 2015) es fundamental en la retención y degradación de la materia orgánica interceptada entre sus raíces. Después de dos años de nuestro estudio, una sección de (tamaño biomasa, algo que diga de que tamaño fue) de *P. areolatum* acumuló en promedio 11.6 g de suelo suspendido seco, pero este helecho puede tener diferentes ejes de crecimiento inmersos en las carpetas y con el tiempo podrían acumular varios kilogramos de suelo suspendido en los árboles (estimación en volumen de hasta 311 l., Victoriano-Romero *et al.* 2020). Incluso se han registrado suelos suspendidos de hasta un metro de profundidad (Enloe *et al.* 2006), lo sugiere que el tiempo para acumular esa biomasa debe ser elevado y más observaciones podrían ayudar a calcular la edad de las carpetas y así interpretar el tiempo de formación de suelos suspendidos.

Se ha sugerido que el material parental de los suelos suspendidos proviene de la biomasa de epífitas y la hojarasca de los árboles en los bosques tropicales (Enloe *et al.* 2006; Tejo-Haristoy *et al.* 2015). Sugiriendo que ambos componentes contribuyen sustancialmente a la composición de nutrientes del suelo suspendido, pero no existen datos que muestren su procedencia en el tiempo de sucesión de la comunidad (Gotsh *et al.* 2016). A dos años del experimento se observó material parental degradado entre las raíces de epífitas, la mayoría irreconocible pero aun así se observaron artrópodos muertos, remanentes de hojas, frutos, semillas, ramillas, flores, corteza de los árboles hospederos y en menor proporción de las plantas epífitas. La menor proporción de componentes epífitos puede ser por la corta duración del experimento y la gran abundancia de hojarasca que corresponde a la dinámica de hojarasca del sistema. Esto coincide con lo encontrado en un bosque cerca del sitio de estudio donde la composición de materia orgánica que cae al suelo es principalmente de hojarasca (70%), seguida del material leñoso (15%), flores y frutos (3%), siendo las especies de

*Quercus* las de mayor contribución (Williams-Linera *et al.* 1996). Otros estudios han determinado la biomasa de la hojarasca es de 0.5 t –ha por año (Nadkarni & Matelson 1992A) que es aproximadamente el 5-10% de la biomasa total caída (Nadkarni & Matelson 1992B).

La hojarasca que se encontraba por encima y sin ser retenida por las raíces de las plantas epífitas fue similar entre los tratamientos, sólo fue mayor sin la presencia de *T. kirchhoffiana* y *T. punctulata*. Estas especies tienen hojas largas y pueden capturar materia orgánica en sus rosetas, así que posiblemente están secuestrando hojarasca que no llega a la rizosfera (Benzin & Seeman 1978). Esto muestra que hay un efecto indirecto de las rosetas en la tasa inmediata de captura de hojarasca; el tamaño y forma de la roseta puede limitar la captura del material orgánico que inmediatamente se integra al suelo suspendido. No obstante, la forma de captura difiere entre helechos y bromelias, por lo que sería interesante probar como es el proceso descomposición de hojarasca entre estas especies de epífitas. Esto ayudaría a interpretar cómo los nutrientes se asimilan en sus raíces o rosetas tanque para así integrarse al suelo suspendido.

El suelo suspendido y la materia orgánica de epífitas cumplen un rol importante en el ciclaje de nutrientes (Nadkarni & Matelson 1992A). Estudios previos sugieren que los nutrientes de los suelos suspendidos están en concentraciones altas y tienen una alta riqueza de microflora, incluso pueden contener una concentración de N mayor que que la del suelo (Cardelús *et al.* 2009). Los resultados de los nutrimentos, muestran que la hojarasca proveniente de *Q. leiophylla* se agrupó, independientemente del tratamiento experimental. Pero, conforme es retenido el suelo suspendido el contenido nutrimental cambió, siendo más rico en nutrientes en el control sin epífitas. Esto sugiere que la deposición seca, los detritívoros y la microflora contribuyen sustancialmente en la calidad de los nutrimentos del suelo suspendido. Los suelos suspendidos de los 15 tratamientos se agruparon en medio de

la hojarasca y el suelo del control, los suelos suspendidos con interacción de las plantas epífitas presentaron más variabilidad que en la hojarasca pero siguen siendo un grupo compacto y se incrementan algunos nutrimentos. Al inicio de experimento el contenido de nutrientes en las plantas fue mayor en *Phlebodium areolatum*, en cambio las bromelias, como anteriormente se documentado (Flores-Palacios *et al.* 2014), tuvieron bajo contenido de nutrientes. Nuestros resultados muestran que la microflora y las epífitas si integran nutrientes al suelo suspendido, pero que éstas últimas también toman nutrientes del suelo suspendido (e.g. *P. areolatum*). Los nutrientes retenidos en las raíces de las especies epífitas están disponibles para las especies y la mayor concentración de nutrientes en *P. areolatum* sugiere que este helecho puede estar aprovechando los nutrientes del suelo suspendido y de ahí que lo retenga.

### **Efectos de las interacciones en las carpetas de epífitas**

Los efectos tanto positivos como negativos entre especies de epífitas han sido poco estudiados (Valencia-Díaz *et al.* 2012; Jian *et al.* 2013; Chaves & Rossatto 2020). El dosel es un hábitat donde el sustrato es escaso y las epífitas suelen tener estrategias para reiterar el uso de un espacio (por ejemplo, el crecimiento clonal) o la invasión de nuevos sustratos (e.g. rizomas rastreros). Las carpetas de epífitas son un sistema donde el sustrato se amplía con la retención de suelo suspendido, que prolonga el sustrato más allá de los límites de las ramas y en donde hasta seis especies pueden coexistir (Victoriano-Romero *et al.* 2020). Nuestros resultados muestran, que las interacciones que se establecen entre epífitas son mayormente de competencia.

*Phlebodium areolatum* tiene un doble papel en las carpetas. Por un lado es definitivamente la especie responsable de la formación del suelo suspendido, de la

ampliación de los límites del sustrato más allá de las ramas y es entonces un facilitador, al funcionar como un ingeniero del ecosistema. El sustrato que *P. areolatum* crea, seguramente es importante para otras especies de epífitas, particularmente para aquellas que sólo habitan en carpetas con suelo suspendido (e.g. *Asplenium praemorsum*, *Hupertzia taxifolia*, *Polypodium furfuraceum*, *Peperomia pseudoalpina*) (Victoriano-Romero *et al.* 2020). Por otro lado, *P. areolatum* es un mal competidor y fue la especie con mayor mortalidad, mientras que *P. areolatum* ocasionó mortalidades entre el 7 % y el 17 % a las *Tillandsia* y disminuyó el crecimiento de estas entre un 4% - 59%, estas disminuyeron la mortalidad de *P. areolatum* en un 11 % -25 % y su crecimiento en 32 % - 57 %. Así que *P. areolatum* va perdiendo al interactuar. Posiblemente por esto, en un estudio previo, sólo 46.8% de las carpetas con suelo suspendido tenían a *P. areolatum* (Victoriano-Romero *et al.* 2020). Es posible que el suelo suspendido en carpetas sin *P. areolatum* sea debido a que este helecho murió o existen otras especies de humus retendedoras de suelo (e.g. aroides) en menor cantidad que este helecho. El papel como facilitador y mal competidor de *P. areolatum*, es coherente dentro del modelo de sucesión por facilitación (Clements 1916; MacCune 1993), en este modelo, las especies creadoras de cambios en el ambiente son sustituidas por mejores competidoras.

Entre las bromelias, *Tillandsia kirchoffiana* es la peor competidora y su rol es más parecido al de *P. areolatum*, incluso tiene efectos positivos en la supervivencia de este helecho y su efecto en la TCR de *T. multicaulis* es mínimo (1%). *Tillandsia kirchoffiana* es la segunda especie más abundante de los suelos suspendidos (Victoriano-Romero *et al.* 2020) y posiblemente también sea un facilitador que después es sustituido por mejores competidores. En un trabajo previo, se encontró que cuando la copa de los árboles está más expuesta a la luz, en árboles aislados en pastizal, la dominancia de la comunidad de epífitas cambia de *T. kirchoffiana* a *T. punctulata* (Flores-Palacios & García-Franco 2004), lo que ya

sugería una menor capacidad competitiva de *T. kirchoffiana*. Nuestros datos muestran que *Tillandsia kirchoffiana* no retiene suelo suspendido, pero esta especie si está asociada a la mayor cantidad de suelo suspendido en el dosel (Victoriano-Romero *et al.* 2020), así que es posible que sus efectos benéficos estén generados por la gran cantidad de ramets que puede generar y la hojarasca que captura entre sus hojas, misma que posiblemente se integra al suelo del dosel conforme estos ramets mueren.

Los resultados muestran que *Tillandsia multicaulis* y *T. punctulata* son los mejores competidores, afectando la supervivencia y el crecimiento de las otras epífitas y asumiendo menores costos. *Tillandsia multicaulis* es una especie que pueden habitar sobre la corteza de los árboles o en carpetas de epífitas (Victoriano-Romero *et al.* 2020), además es una especie tanque que retiene agua y hojarasca entre sus hojas. *Tillandsia punctulata* no es una especie tanque, pero también puede retener agua y hojarasca entre sus hojas y ya antes se ha sugerido que es una mejor competidora, ya que aprovecha mejores condiciones de luz para dominar en sitios de alta luminosidad (Flores-Palacios & García-Franco 2004). Los datos claramente muestran que las epífitas compiten entre sí en las carpetas que forman, pero no relevan los mecanismos de competencia. Entre los mecanismos de competencia están el sombreado e interacciones químicas que deben ser investigados experimentalmente. Nuestra aproximación experimental consistió en poner en co-ocurrencia ramets de ejemplares adultos, de esta forma podemos inferir que ocurre cuando son adultos. Sin embargo, es necesario entender cómo interactúan al momento del establecimiento. En otros trabajos se ha encontrado que en especies de *Tillandsia* atmosféricas de bosques secos, hay efectos alelopáticos que disminuyen la germinación de semillas (Valencia-Díaz *et al.* 2012), y que la invasión de las ramas por las plantas interfiere en la colonización de las ramas (Chaves & Rossatto 2020).

## **Conclusiones**

En un bosque mesófilo de montaña del centro de México, en Veracruz hemos experimentado por primera vez cómo es la contribución de las especies clave en la retención del suelo suspendido y los efectos mutuos entre las especies frecuentes de las carpetas de epífitas. Estos datos confirman las observaciones y correlaciones de que los helechos con rizomas suculentos (*P. areolatum*) son facilitadores en la formación y mantenimiento de los suelos suspendidos (Enloe *et al.* 2006; Victoriano-Romero *et al.* 2020). Los datos también muestran que no existe un patrón claro en la aportación de nutrientes por parte de las especies de epífitas, sino que tal vez podrían estar teniendo competencia por el recurso (agua, amortiguamiento de temperatura, nutrientes, etc). Sin embargo, el tiempo de la formación de suelos suspendidos podría ser lenta debido a los procesos de sucesión (Woods 2017) e iniciar experimentos en etapas de germinación podría ayudar a entender mejor los efectos mutuos. Es por esto que los trabajos experimentales en carpetas de epífitas con suelos suspendidos se vuelven de interés al ser un reservorio en parches en el dosel.

## **Agradecimientos**

J. M. Saldaña Rojas, V. Vázquez-Reyes, y N.F. Alzate-Quintero apoyo en trabajo de campo. A. Martínez-Virués, D. Cela-Cadena y S. Rocha-Ortiz ayuda en los análisis de suelos. Especialmente gracias a A. Guillén-Servent y G. Williams-Linera quienes nos dieron permiso de trabajar en su propiedad. Esta investigación fue financiada por IDEA WILD (EVR), Instituto de Ecología A.C. (No.-20030-144 de J.G. García-Franco) y beca CONACYT otorgada a EVR (No. 274309). Esto es parte de la Tesis de Doctorado en Ciencias Naturales de EVR en la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

## **Bibliografía**

- Benzing DH. 1990.** Vascular epiphytes. Cambridge: Cambridge University Press.
- Benzing DH, Seeman J. 1978.** Nutritional piracy and host decline: a new perspective on the epiphyte-host relationship. *Selbyana*, **2**: 133–148.
- Brown AD. 1990.** El epífitismo en las selvas montañas del Parque Nacional “El Rey”, Argentina: composición florística y patrón de distribución. *Revista de Biología Tropical*, **38**: 155–166.
- Callaway RM. 1995.** Positive interactions among plants. *Botanical Review*, **61**: 306–349
- Chaves CJN, Rossatto DR. 2020.** Unraveling intricate interactions among atmospheric bromeliads with highly overlapping niches in seasonal systems. *Plant Biology*
- Clements FE. 1916.** Plant succession: An analysis of the development of vegetation. Carnegie Institution of Washington, Washington, DC.
- Coxson DS, Nadkarni NM. 1995.** Ecological roles of epiphytes in nutrient cycles of forest ecosystems. In: Lowman M. D., Nadkarni N.M. (eds) *Forest canopies*: 495–543. San Diego, Academic Press.
- Crawley 2013 The R book.** The R Book. Chichester, West Sussex, Wiley, Print.
- Cruz-Angón A, Greenberg R. 2005.** Are epiphytes important for birds in coffee plantations? An experimental assessment. *Journal of Applied Ecology*, **42**: 150–159.
- Dray S, Dufour A. 2007.** “The ade4 Package: Implementing the Duality Diagram for Ecologists.” *Journal of Statistical Software*, **22**(4), pp. 1-20. doi: 10.18637/jss.v022.i04 (URL: <http://doi.org/10.18637/jss.v022.i04>).
- Enloe HA, Graham RC, Sillett SC. 2006.** Arboreal histosols in old-growth redwood forest canopies, Northern California. *Soil Science Society of America Journal*, **70**: 408–418.

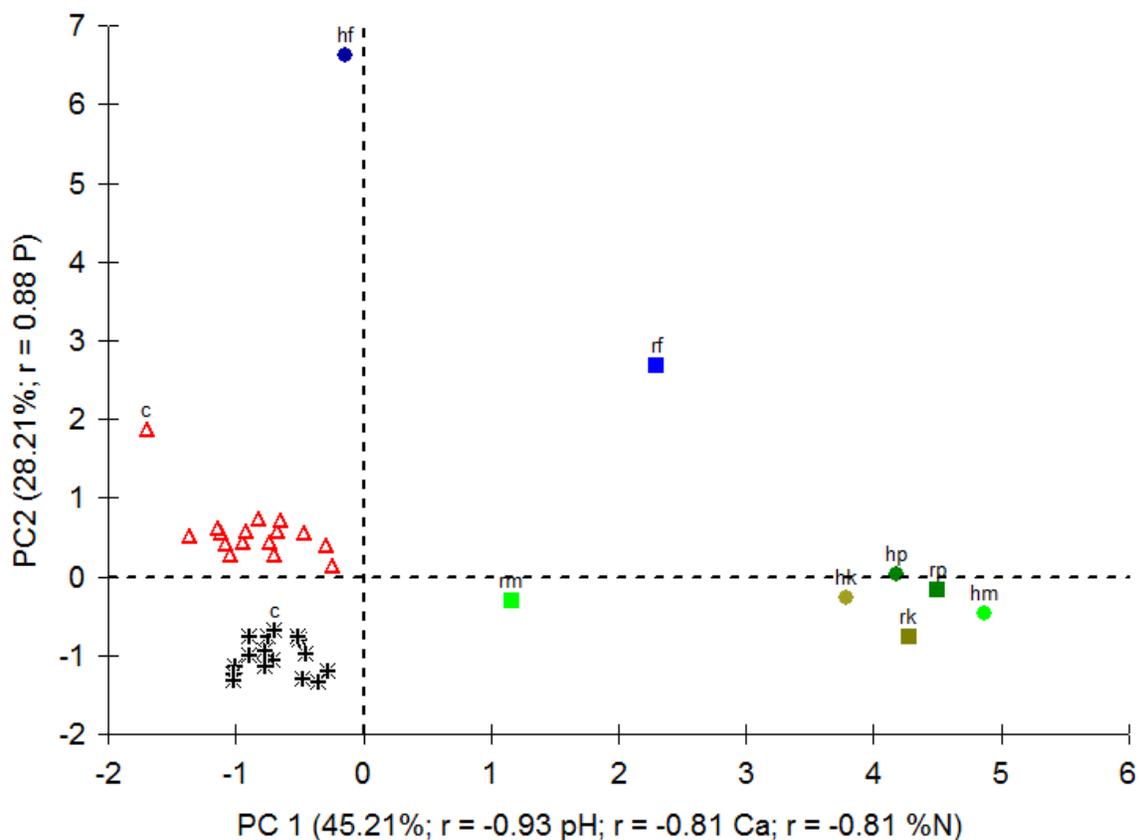
- Etchevrs-Barra J, Goigberg EG, López-Romer RM, Padilla-Cuevas J, Alvarado-López J, Hidalgo-Moreno C, Cruz-Huerta M, Guerrero-Peña A, Gutiérrez B, Miranda-Cruz E. 1997.** Manual de procedimientos analíticos para análisis de suelos y plantas de laboratorio de fertilidad de suelos. IRENAT. Colegio de Posgraduados, Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A.C., México, D. F.
- Flores-Palacios A, García-Franco JG. 2004.** Effect of isolation on the structure and nutrient Budget of oak epiphyte communities. *Plant Ecology*, **173**: 259–269.
- Flores-Palacios A, García-Franco, JG. 2008.** Habitat isolation changes the beta diversity of the vascular epiphyte community in lower montane forest, Veracruz, Mexico. *Biodiversity and Conservation*, **17**(1): 191–207.
- Flores-Palacios A, Barbosa-Duchateau CL, Valencia-Díaz S, Capistrán-Barradas A, García-Franco JG. 2014.** Direct and indirect effects of *Tillandsia recurvata* on *Prosopis laevigata* in the Chihuahua desert scrubland of San Luis Potosi, Mexico. *Journal of Arin Environments*, **104**: 88–95.
- Gotsch SG, Nadkarni NM, Amici AA. 2016.** The functional roles of epiphytes and arboreal soils in tropical montane cloud forest. *Journal of Tropical Ecology*, **32**: 455–468.
- Hoshizaki B, Moran RC. 2001.** Ferns grower's manual. Timber press.
- Ingram SW, Nadkarni NM. 1993.** Composition and distribution of epiphyte organic matter in a neotropical cloud forest, Costa Rica. *Biotropica*, **25**: 370–383.
- Jepson J, 2000.** The tree climber's companion. J. Jepson, Rt. 1. Box 546, Longville, USA.
- Jian PY, Hu FS, Wang CP, Chiang JM, Lin TC. 2013.** Ecological facilitation between two epiphytes through drought mitigation in a Subtropical Rainforest. *PLoS ONE*, **8**(5): e64599.

- Johnson RA, Wichern DW. 2002.** Applied multivariate statistical analysis. Prentice Hall. Upper Saddle River, NJ.
- Johansson D. 1974.** Ecology of vascular epiphytes in west African rain forest. *Acta Phytogeographica Sueca*, **59**: 1–130.
- Kleinbaum DG, Klein M. 2005.** Survival Analysis. Editorial Springer. United States of America.
- Leary JJK, Singleton PW, Borthakur D. 2004.** Canopy nodulation of the endemic tree legume *Acacia koa* in the mesic forests of Hawaii. *Ecology*, **85**: 3155–3157.
- López-Villalobos A, Flores-Palacios A, Ortiz-Pulido R. 2008.** The relationship between bark peeling rate and the distribution and mortality of two epiphyte species. *Plant Ecology*, **198**: 265–274.
- MacCune B. 1993.** Gradients in epiphyte biomass in three *Pseudotsuga-Tsuga* forest of different ages in western Oregon and Washington. *Bryologist*, **96**: 405–411.
- Nadkarni N.M. 2000.** Colonization of stripped branch surfaces by epiphytes in a lower montane cloud forest, Monteverde, Costa Rica. *Biotropica*, **32**: 358–363.
- Nadkarni NM, Parker GG, Rinker HB, Jarzen DM. 2004.** The nature of forest canopies. Pp 3–23 in: Lowman MD, Rinker HB (eds) *Forest canopies*. Elsevier, Burlington.
- Nadkarni NM, Matelson TJ. 1992A.** Biomass and Nutrient Dynamics of Epiphytic Litterfall in a Neotropical Montane Forest, Costa Rica. *Biotropica*, **24** (1): 24–30
- Nadkarni NM, Matelson TJ. 1992B.** Biomass and nutrient dynamics of fine litter of terrestrially rooted material in a neotropical montane forest, Costa Rica. *Biotropica*, **24** (2): 113–120

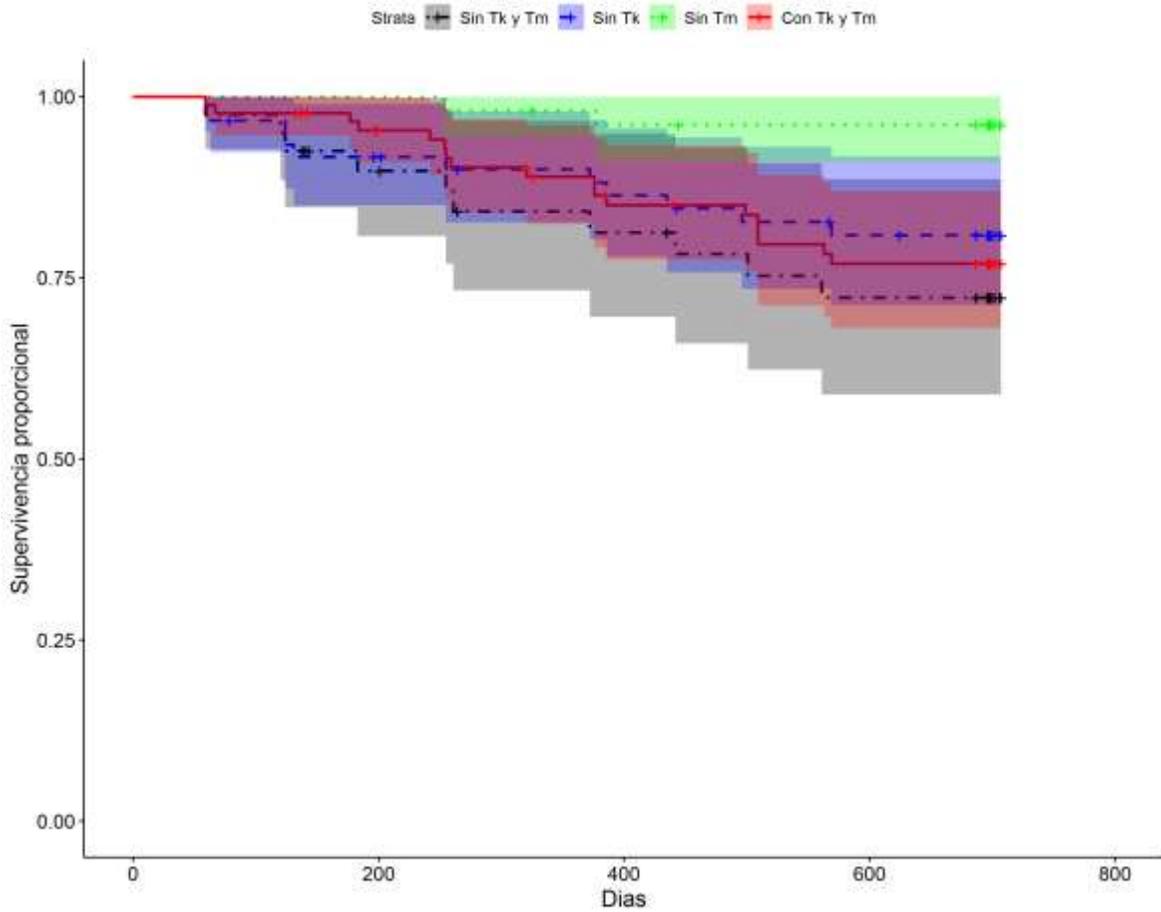
- Ortega-Solís G, Díaz I, Mellado-Mansilla D, Tello F, Moreno R, Tejo C. 2017.** Ecosystem engineering by *Fascicularia bicolor* in the canopy of the South-American temperate rainforest. *Forest Ecology and Management*, **400**: 417–428.
- Sillett SC, Bailey MG. 2003.** Effects of tree crown structure on biomass of the epiphytic fern *Polipodium scolieri* (Polypodiaceae) in a redwood forest. *American Journal of Botany*, **90**: 255–261.
- Tejo-Haristoy C, Zabowski D, Nadkarni N. 2014.** Canopy soil of Sitka spruce and bigleaf maple in the Queets River Watershed, Washington. *Soil Science Society American Journal*, **78**: S118–S124.
- Tejo-Haristoy CF, Zabowski D, Nadkarni N. 2015.** Total and epiphytic litter under the canopy of *Acer macrophyllum* in an old-growth temperate rainforest, Washington State, USA. *Canadian Journal of Forest Research*, **45**: 1654–1661.
- Therneau T. 2015.** A Package for Survival Analysis in S. version 2.38
- Veneklass E, Zagt R, Leerdam AV, Ek R, Broekhoven G, Vaan Genderen M. 1990.** Hydrological properties of the epiphyte mass of a montane tropical rain forest, Colombia. *Vegetatio*, **89**: 183–192.
- Valencia-Díaz S, Flores-Palacios A, Rodríguez-López V, Jiménez-Aparicio A.R. 2012.** Effects of *Tillandsia recurvata* extracts on the seed germination of *Tillandsia* spp. *Allelopathy Journal*, **29**: 125–135.
- Vargas-Tapia P, Castellanos-Ramos JZ, Muñoz-Ramos JJ; Sánchez-García P, Tijerina-Chávez L, López-Romero RM, Martínez-Sánchez C, Arredondo JL. 2008.** Effect of particle size on some physical properties of tezontle (volcanic rock) from the state of Guanajuato. *Agricultura técnica en México*, **34** (3): 323–331

- Victoriano-Romero E, García-Franco JG, Mehltreter K, Valencia-Díaz S, Toledo-Hernández VH, Flores-Palacios A. 2020.** Epiphyte associations and canopy soil volume: nutrient capital and factors influencing soil retention in the canopy. *Plant Biology* doi:10.1111/plb.13080.
- Williams-Linera G, Tolome J. 1996.** Litterfall, Temperate and Tropical Dominant Trees, and Climate in a Mexican Lower Montane Forest. *Biotropica*, **28** (4): 649–656
- Williams-Linera G, Manson RH, Vera EI. 2002.** La fragmentación del bosque mesófilo de montaña y patrones de uso del suelo en la región oeste de Xalapa, Veracruz, México. *Madera y Bosques*, **8**: 69–85.
- Woods CL. 2017.** Primary ecological succession in vascular epiphytes: the species accumulation model. *Biotropica*, **49**:452–460.
- Woods CL, Cardelús CL, DeWalt SJ. 2015.** Microhabitat associations of vascular epiphytes in a wet tropical forest. *Journal of Ecology*, **103**: 421–430.
- Zar JH. 2010.** *Biostatistical Analysis*. Pearson Education, Inc., Upper Saddle River, New Jersey.

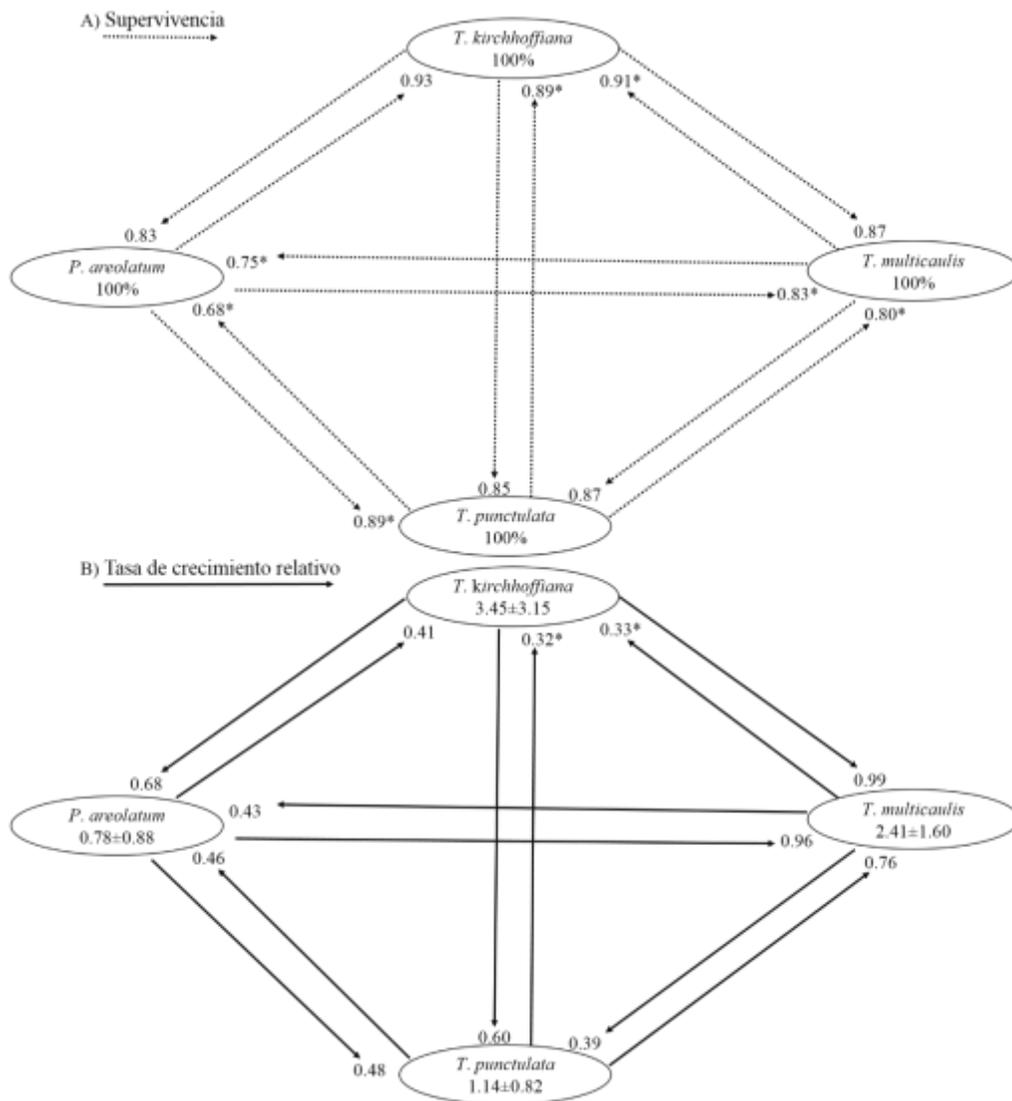
## Figuras



**Figura 1.** Ordenamiento del contenido de nutrientes de hojas (cuadros) y raíces (círculos llenos) de *Phlebodium areolatum* (hf, rf) *Tillandsia multicaulis* (hm, rm), *T. punctulata* (hp, rp), *T. kirchhoffiana* (ht, rt), y de la hojarasca (asteriscos) y el suelo suspendido (triángulos) retenidos en un experimento de co-ocurrencia de estas especies en el dosel de un bosque mesófilo de montaña del centro de Veracruz. c = tratamientos sin epífitas.



**Figura 2.** Curva de supervivencia de Kaplan-Meier de divisiones de *Phlebodium areolatum* sembradas en sin la presencia *Tillandsis kirchhoffiana* y *T. multicaulis* (black, dotdash line), sin *T. kirchhoffiana* (blue, dashed line), sin *T. multicaulis* (green, dotted line) o con la presencia de *Tillandsis kirchhoffiana* y *T. multicaulis* (red, solid line). Las áreas sombreadas son los intervalos de confianza al 95%.



**Figura 3.** Valores de adecuación relativa ( $\hat{w}$ ) en términos de supervivencia (A) y de tasa relativa de crecimiento (B) de cuatro especies de epífitas al interactuar entre ellas. Las flechas indican el sentido del efecto en adecuación, los valores junto a las elipses son las adecuaciones de la especie en la elipse. En a) los valores dentro de la elipse son las supervivencias y en b) los promedios ( $\pm$ DE) de las TCR observados cuando se encontraba sola cada una de las especies. Los asteriscos indican efectos significativos encontrados en los análisis de supervivencia y de las tasas relativas de crecimiento (ANOVA).

## Cuadros

**Cuadro 1.** Resultados de los efectos fijos de los ANOVAs para probar el efecto de la presencia/ausencia de *Phlebodium areolatum*, *Tillandsia kirchhoffiana*, *T. multicaulis* y *T. punctulata* en la retención de hojarasca y suelo suspendido (Promedio±desviación estándar) en el dosel de un bosque mesófilo de montaña del centro de Veracruz, México. En negrillas valores de  $P < 0.05$ .

Fuente de variación	Suma cuadrados	de Grados de libertad	F	P	Promedio±DE
Hojarasca					
<i>Phlebodium areolatum</i>	247.79	1	5.04	0.051	36.58±14.35
<i>Tillandsia kirchhoffiana</i>	1239.27	1	11.75	<b>0.007</b>	34.57±14.93
<i>T. multicaulis</i>	0.42	1	0.003	0.95	36.28±9.32
<i>T. punctulata</i>	1336.05	1	33.70	<b>0.0002</b>	33.48±10.48
<i>P. areolatum</i> × <i>T. kirchhoffiana</i>	31.60	1	0.23	0.64	28.85±17.23
<i>P. areolatum</i> × <i>T. multicaulis</i>	132.41	1	1.36	0.27	34.44±17.44
<i>P. areolatum</i> × <i>T. punctulata</i>	186.99	1	2.68	0.14	29.60±9.52
<i>T. kirchhoffiana</i> × <i>T. multicaulis</i>	118.84	1	1.46	0.26	34.89±17.10
<i>T. kirchhoffiana</i> × <i>T. punctulata</i>	0.72	1	0.15	0.90	25.65±8.67
<i>T. multicaulis</i> × <i>T. punctulata</i>	113.28	1	1.77	0.22	33.01±17.60
<i>P. areolatum</i> × <i>T. kirchhoffiana</i> × <i>T. multicaulis</i>	0.42	1	0.002	0.96	30.57±10.29
<i>P. areolatum</i> × <i>T. kirchhoffiana</i> × <i>T. punctulata</i>	63.64	1	1.89	0.20	24.74±12.40
<i>P. areolatum</i> × <i>T. multicaulis</i> × <i>T. punctulata</i>	2.44	1	0.11	0.75	31.94±13.98
<i>T. kirchhoffiana</i> , × <i>T. multicaulis</i> × <i>T. punctulata</i>	46.60	1	1.40	0.27	25.14±10.17
<i>P. areolatum</i> × <i>T. kirchhoffiana</i> , × <i>T. multicaulis</i> × <i>T. punctulata</i>	23.48	1	0.06	0.81	29.69±12.86
Suelo suspendido					
<i>P. areolatum</i>	3194.08	1	80.43	<b>&lt;0.0001</b>	12.74±6.32
<i>T. kirchhoffiana</i>	0.015	1	0.000	0.98	2.52±1.57
<i>T. multicaulis</i>	4.34	1	0.164	0.70	1.99±1.65
<i>T. punctulata</i>	9.69	1	0.74	0.41	1.79±1.13
<i>P. areolatum</i> × <i>T. kirchhoffiana</i>	32.45	1	2.20	0.17	11.82±7.70
<i>P. areolatum</i> × <i>T. multicaulis</i>	0.25	1	0.01	0.91	11.6±5.90

<i>P. areolatum</i> × <i>T. punctulata</i>	0.17	1	0.01	0.91	10.92±5.86
<i>T. kirchhoffiana</i> × <i>T. multicaulis</i>	2.05	1	0.18	0.68	4.09±2.47
<i>T. kirchhoffiana</i> × <i>T. punctulata</i>	1.00	1	0.10	0.76	2.93±2.14
<i>T. multicaulis</i> × <i>T. punctulata</i>	12.89	1	1.03	0.34	2.20±1.09
<i>P. areolatum</i> × <i>T. kirchhoffiana</i> × <i>T. multicaulis</i>	2.66	1	0.32	0.58	11.32±5.63
<i>P. areolatum</i> × <i>T. kirchhoffiana</i> × <i>T. punctulata</i>	1.08	1	0.07	0.79	10.06±5.63
<i>P. areolatum</i> × <i>T. multicaulis</i> × <i>T. punctulata</i>	17.49	1	2.29	0.16	12.94±5.49
<i>T. kirchhoffiana</i> , × <i>T. multicaulis</i> × <i>T. punctulata</i>	11.99	1	0.53	0.48	2.83±0.93
<i>P. areolatum</i> × <i>T. kirchhoffiana</i> , × <i>T. multicaulis</i> × <i>T. punctulata</i>	1.49	1	0.05	0.81	11.32±5.2

---

**Cuadro 2.** Varianza explicada por dos componente principales y los valores de correlación del pH y siete nutrientes medidos en cuatro especies de epífitas, hojarasca y suelo suspendido en el dosel de un bosque mesófilo del centro de Veracruz. En negrillas los valores de correlación mayores a 0.8.

Variable	PC 1	PC 2
pH	<b>-0.93</b>	-0.19
P	-0.41	<b>0.88</b>
Na	0.40	0.74
K	-0.69	-0.05
Ca	<b>-0.81</b>	-0.48
Mg	-0.45	0.46
%N	<b>-0.81</b>	0.40
Porcentaje de varianza explicada	45.21	28.21

**Cuadro 3.** Porcentaje de supervivencia de secciones de *P. areolatum* y ramets de tres especies de *Tillandsias* después de 707 días sembradas en coocurrencia entre estas especies de epífitas (ocho tratamientos de presencia/ausencia). Entre paréntesis se muestran las supervivencias y los promedios de TCR para los niveles de los factores principales. Asteriscos en los factores principales indican diferencias significativas entre los niveles de los factores principales.

Porcentaje de Supervivencia		Presencia de <i>T. punctulata</i>			
		SI	NO		
Supervivencia de <i>Phlebodium areolatum</i>		(70.9%)*	(87.8%)*		
Presencia de <i>T. multicaulis</i>	SI (75.8%)	71.4%	83.3%	SI (84.1%)	
	NO (83.0%)	90.9%	90.9%	SI	Presencia de
	SI	71.4%	76.9%	NO (74.6%)	<i>T. kirchhoffiana</i>
	NO	50%	100%	NO	
Supervivencia de <i>Tillandsia kirchhoffiana</i>		(89.4%)*	(97.7%)*		
Presencia de <i>P. areolatum</i>	SI (93.6%)	83.3%	90.9%	SI (91.3%)*	
	NO (93.6%)	90.9%	100%	SI	Presencia de
	SI	100%	100%	NO (95.3%)*	<i>T. multicaulis</i>
	NO	83.3%	100%	NO	
Supervivencia de <i>T. multicaulis</i>		(80.6%)*	(95.5%)*		
Presencia de <i>P. areolatum</i>	SI (84.8%)*	76.9%	90.9%	SI (87.4%)	
	NO (91.3%)*	90.9%	90.9%	SI	Presencia de
	SI	71.4%	100%	NO (88.7%)	<i>T. kirchhoffiana</i>
	NO	83.3%	100%	NO	
Supervivencia de <i>Tillandsia punctulata</i>		(89.4%)	(95.8%)		

Presencia de <i>P. areolatum</i>	SI (91.7%)*	66.7%	100%	SI (87.5%)	Presencia de <i>T. kirchhoffiana</i>
	NO (93.6%)*	100%	83.3%	SI	
	SI	100%	100%	NO (97.7%)	
	NO	90.9%	100%	NO	

---

**Cuadro 4.** Promedios ( $\pm$ DE) de TCR de secciones de *P. areolatum* y ramets de tres especies de *Tillandsias* después de 707 días sembradas en coocurrencia entre estas especies de epífitas (ocho tratamientos de presencia/ausencia). Entre paréntesis se muestran las supervivencias y los promedios de TCR para los niveles de los factores principales. Asteriscos en los factores principales indican diferencias significativas entre los niveles de los factores principales.

Tasa relativa de crecimiento (TCR)		Presencia de <i>T. punctulata</i>			
		SI	NO		
TCR de <i>Phlebodium areolatum</i>		SI (0.36 $\pm$ 1.23)	NO (0.53 $\pm$ 0.97)		
Presencia de <i>T. multicaulis</i>	SI (0.33 $\pm$ 1.08)	0.22 $\pm$ 1.08	0.5 $\pm$ 1.13	SI (0.53 $\pm$ 1.06)	
	NO (0.56 $\pm$ 1.11)	0.76 $\pm$ 1.13	0.63 $\pm$ 0.89	SI	Presencia de <i>T. kirchhoffiana</i>
	SI	0.4 $\pm$ 1.15	0.21 $\pm$ 0.97	NO (0.36 $\pm$ 1.14)	
	NO	0.06 $\pm$ 1.55	0.78 $\pm$ 0.88	NO	
TCR de <i>Tillandsia kirchhoffiana</i>		SI (1.12 $\pm$ 1.39) *	NO (2.04 $\pm$ 1.48)*		
Presencia de <i>P. areolatum</i>	SI (1.76 $\pm$ 1.85)	1.05 $\pm$ 1.28	1.11 $\pm$ 0.88	SI (1.15 $\pm$ 1.13) *	Presencia de <i>T. multicaulis</i>
	NO (1.4 $\pm$ 1.02)	1 $\pm$ 1.36	1.45 $\pm$ 0.86	SI	

	SI	1.29±1.0	2.15±0.91	NO (2.01±1.75) *	
	NO	1.14±2.05	3.45±3.15	NO	
TCR de <i>T. multicaulis</i>	SI	(1.84±1.94)	NO (2.76±1.9)		
	SI (2.32±1.98)	1.84±1.86	2.6±1.95	SI (2.4±1.95)	
Presencia de <i>P. areolatum</i>	NO (2.28±1.86)	1.98±1.63	3.17±2.36	SI	Presencia de <i>T. kirchhoffiana</i>
	SI	1.97±2.41	2.84±1.71	NO (2.2±1.89)	
	NO	1.55±1.85	2.41±1.6	NO	
TCR de <i>Tillandsia punctulata</i>		Presencia de <i>Tillandsia multicaulis</i>	NO (1.03±1.14)		
	SI (0.55±0.66)	-0.16±0.82	0.78±0.55	SI (0.69±1.17)	
Presencia de <i>P. areolatum</i>	NO (0.93±1.21)	0.91±0.8	1.22±2.49	SI	Presencia de <i>T. kirchhoffiana</i>
	SI	0.6±0.58	0.97±0.68	NO (0.79±0.71)	
	NO	0.44±0.74	1.14±0.82	NO	

---

**Cuadro 5.** Valores de devianza del efecto mutuo de cuatro especies de epífitas en su supervivencia; nt = no probado. En negrillas valores de  $P < 0.05$ .

Effecto	Grados de libertad	$\chi^2$	P
a) <i>Phlebodium areolatum</i> (Pa)			
<i>T. kirchhoffiana</i>	1	2.068	0.153
<i>T. multicaulis</i>	1	1.978	0.159
<i>T. punctulata</i>	1	7.789	<b>0.005</b>
Tk×Tm	1	8.805	<b>0.003</b>
Tk×Tp	1	0.420	0.516
Tm×Tp	1	1.107	0.292
Tk×Tm×Tp		nt	
b) <i>Tillandsia kirchhoffiana</i> (Tk)			
<i>P. areolatum</i>	1	2.428	0.119
<i>T. multicaulis</i>	1	3.960	<b>0.0465</b>
<i>T. punctulata</i>	1	3.945	<b>0.0469</b>
Pa×Tm		nt	
Pa×Tp		nt	
Tm×Tp		nt	
Pa×Tm×Tp		nt	
c) <i>T. multicaulis</i> (Tm)			
<i>P. areolatum</i>	1	8.467	<b>0.003</b>
<i>T. kirchhoffiana</i>	1	0	0.995
<i>T. punctulata</i>	1	4.645	<b>0.0311</b>
Pa×Tk	1	0.544	0.460
Pa×Tp	1	0.063	0.801
Tk×Tp		nt	
Pa×Tk×Tp		nt	
d) <i>T. punctulata</i> (Tp)			
<i>P. areolatum</i>	1	6.599	<b>0.010</b>
<i>T. kirchhoffiana</i>	1	1.750	0.185
<i>T. multicaulis</i>	1	0.322	0.570
Pa×Tk		nt	
Pa×Tm		nt	
Tk×Tm		nt	
Pa×Tk×Tm		nt	

**Cuadro 6.** Resultados de los efectos fijos de los ANOVAs para probar los efectos mutuos de cuatro especies de epífitas en su tasa relativa de crecimiento. En negrillas valores de  $P < 0.05$ .

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	F	P
a) <i>Phlebodium areolatum</i> (Pa)				
<i>T. kirchhoffiana</i>	0.54	1	1.18	0.30
<i>T. multicaulis</i>	1.03	1	0.92	0.36
<i>T. punctulata</i>	0.58	1	0.66	0.44
Tk × Tm	0.24	1	0.22	0.65
Tk × Tp	0.18	1	0.32	0.59
Tp × Tm	0.30	1	0.45	0.52
Tk × Tp × Tm	2.17	1	2.74	0.13
b) <i>Tillandsia kirchhoffiana</i> (Tk)				
<i>P. areolatum</i>	2.60	1	1.22	0.30
<i>T. multicaulis</i>	14.69	1	10.15	<b>0.01</b>
<i>T. punctulata</i>	16.98	1	21.58	<b>0.001</b>
Pa × Tm	0.92	1	0.56	0.47
Pa × Tp	4.30	1	1.88	0.20
Tp × Tm	8.75	1	5.36	<b>0.045</b>
Pa × Tp × Tm	1.41	1	0.57	0.47
c) <i>T. multicaulis</i> (Tm)				
<i>P. areolatum</i>	0.03	1	0.01	0.924
<i>T. kirchhoffiana</i>	0.81	1	0.30	0.59
<i>T. punctulata</i>	16.90	1	3.37	0.09
Pa × Tk	2.99	1	0.82	0.39
Pa × Tp	0.22	1	0.08	0.77
Tk × Tp	0.06	1	0.02	0.88
Pa × Tk × Tp	0.24	1	0.06	0.80
d) <i>T. punctulata</i> (Tp)				
<i>P. areolatum</i>	2.87	1	2.23	0.17
<i>T. kirchhoffiana</i>	0.210	1	0.25	0.63
<i>T. multicaulis</i>	6.75	1	2.93	0.12
Pa × Tk	2.74	1	2.20	0.17
Pa × Tm	0.11	1	0.17	0.69
Tk × Tm	0.04	1	0.07	0.80
Pa × Tk × Tm	1.14	1	1.40	0.26

## **Material Suplementario**

**Interacción entre epífitas durante la formación de suelo suspendido: Un experimento  
en un bosque mesófilo de montaña del suroeste de México**

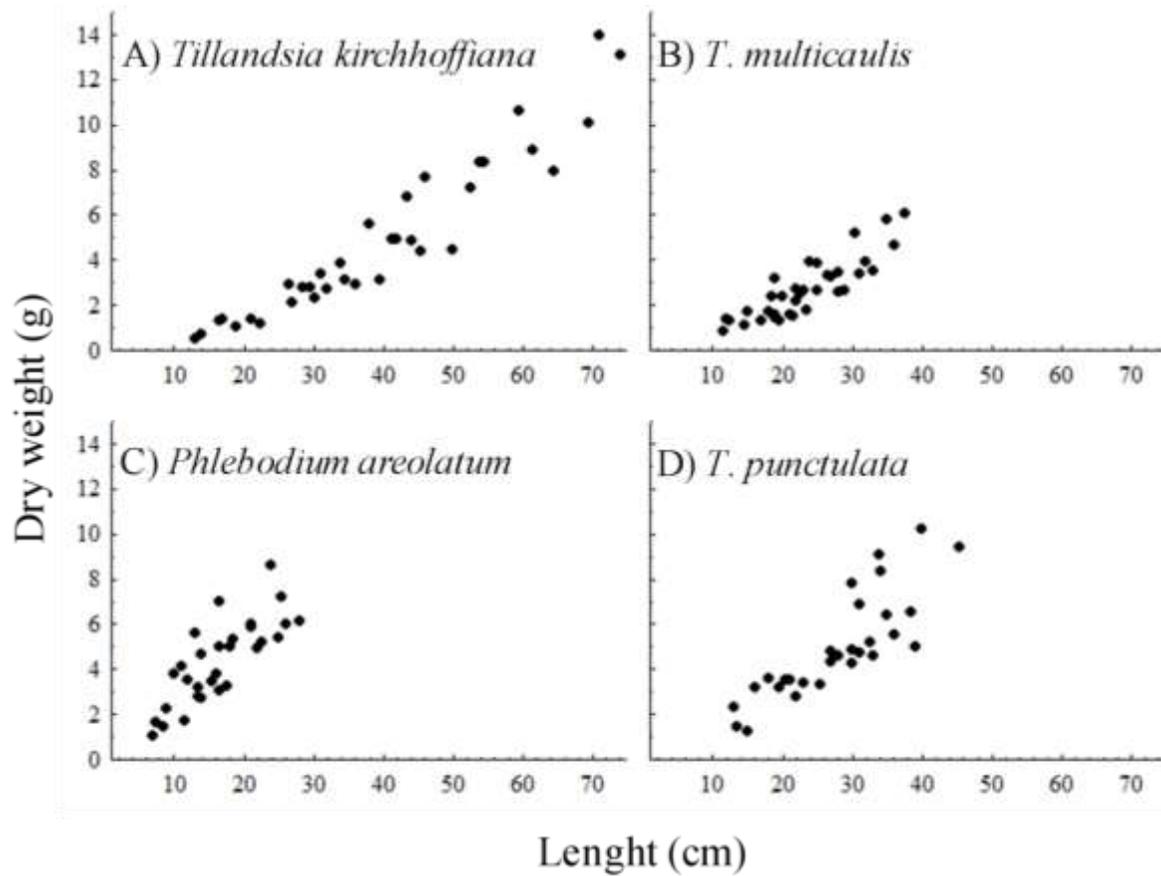
## Figuras



**Figura S1.** Ejemplo de sembrado de epífitas en macetas de plástico, en este caso es el tratamiento donde interactúan *Tillandsia kirchhoffiana* (a), *T. multicaulis* (b) y *Phlebodium areolatum* (flecha).



**Figura S2.** Ejemplos del resultado de dos años de la siembra de cuatro especies de epífitas en tratamientos experimentales; A) interacción de *P. areolatum* (I) con *T. kirchhoffiana* (II), B) sólo *P. areolatum*, C) interacción de *T. multicaulis*, *T. punctulata* y *P. areolatum*. Nótese cómo las raíces de las epífitas sostienen todo el sustrato en que fueron sembradas.



**Figura S3.** Correlación de la longitud del rizoma y la altura de las *Tillandsia* con los pesos secos de cada individuo de cada especie de epífita.

## Cuadros

**Cuadro S1.** Diseño experimental para probar el efecto de la presencia/ausencia de cuatro especies de epífitas en su crecimiento, supervivencia y en la acumulación de hojarasca y suelo suspendido.

Presencia/ausencia de				Nivel de interacción
<i>Phlebodium areolatum</i>	<i>Tillandsia punctulata</i>	<i>Tillandsia kirchhoffiana</i>	<i>Tillandsia multicaulis</i>	
Si	Si	Si	Si	Cuádruple
Si	Si	Si	No	Triple
Si	Si	No	Si	Triple
Si	Si	No	No	Doble
Si	No	Si	Si	Triple
Si	No	Si	No	Doble
Si	No	No	Si	Doble
Si	No	No	No	control (sólo <i>Phlebodium</i> )
No	Si	Si	Si	Triple
No	Si	Si	No	Doble
No	Si	No	Si	Doble
No	Si	No	No	control (sólo <i>T. punctulata</i> )
No	No	Si	Si	Doble
No	No	Si	No	control (sólo <i>T. kirchhoffiana</i> )
No	No	No	Si	control (sólo <i>T. multicaulis</i> )
No	No	No	No	control (sólo grava)

**Cuadro S2.** Tamaño inicial promedio ( $\pm$ DE) de las divisiones de cuatro especies de epífitas utilizadas en un experimento factorial completo de presencia/ausencia recíproca. NA = no aplica.

Especie	Altura de la roseta/ Longitud del rizoma (cm)	Número de hojas	Diámetro del rizoma (cm)
<i>Phlebodium areolatum</i>	16.3 $\pm$ 3.8	0.54 $\pm$ 0.5	9.9 $\pm$ 0.8
<i>Tillandsia kirchhoffiana</i>	38.0 $\pm$ 10.0	NA	NA
<i>T. multicaulis</i>	23.4 $\pm$ 5.9	NA	NA
<i>T. punctulata</i>	29.7 $\pm$ 5.9	NA	NA

**Cuadro S3.** Valores de correlación entre la longitud/altura y la biomasa (peso seco y sus logaritmos naturales) de plantas colectadas para la estimación de biomasa inicial de *Phlebodium areolatum* (a) y tres especies de *Tillandsia* (b, c y d).

	Peso seco	Ln (Peso seco)
a.- <i>Phlebodium areolatum</i>		
Altura	0.80	0.79
Ln (altura)	0.81	0.84
b.- <i>Tillandsia kirchhoffiana</i>		
Altura	0.95	0.94
Ln (altura)	0.89	0.97
c.- <i>T. multicaulis</i>		
Altura	0.87	0.88
Ln (altura)	0.83	0.87
d.- <i>T. punctulata</i>		
Altura	0.83	0.88
Ln (altura)	0.78	0.88

**Cuadro S4.** Modelos resultantes para la estimación de biomasa inicial (g, peso seco) de ramets de tres especies de *Tillandsia* y *Phlebodium areolatum*.

Especie	Modelo
<i>Tillandsia kirchhoffiana</i>	$\text{Ln (Biomasa)} = -4.85597182 + 1.721085 \times \text{Ln(Altura)}$
<i>Tillandsia multicaulis</i>	$\text{Ln (Biomasa)} = -3.47168 + 1.40091 \times \text{Ln(Altura)}$
<i>Tillandsia punctulata</i>	$\text{Ln (Biomasa)} = -3.02109 + 1.38223 \times \text{Ln(Altura)}$
<i>Phlebodium areolatum</i>	$\text{Ln (Biomasa)} = -1.72150 + 1.12426 \times \text{Ln(Longitud)}$

**Cuadro S5.** Contenido de nutrientes (cmol/kg = mili equivalentes por 100 g) y pH de las especies de plantas epífitas estudiadas (hojas y rizoma/raíz) (a), y de la hojarasca (b) y el suelo suspendido (c), estos dos últimos retenidos en los diferentes tratamientos de coocurrencia de las especies. Las siglas indican las especies presentes en cada tratamiento.

	pH	Fosforo	Sodio	Potasio	Calcio	Magnesio	% Carbono	% Nitrógeno	C/N
<b>a) Especie</b>									
Hojas de <i>P. areolatum</i> (Pa)	3.6	5.9	142.9	3.4	5.5	13.8	45.8	2.4	19.0
Hojas de <i>T. kirchhoffiana</i> (Tk)	3.7	1.0	46.6	1.2	6.0	4.2	47.5	0.9	52.0
Hojas de <i>T. multicaulis</i> (Tm)	2.9	0.4	18.6	0.5	1.0	1.9	46.7	1.3	37.0
Hojas de <i>T. punctulata</i> (Tp)	3.5	0.9	53.6	1.3	2.8	4.6	46.5	1.0	48.0
Rizoma de <i>P. areolatum</i>	3.2	2.1	137.7	3.2	13.8	18.0	46.1	1.3	35.0
Raíz de <i>T. kirchhoffiana</i>	3.4	0.6	22.1	0.7	4.7	4.3	46.8	1.0	47.0
Raíz de <i>T. multicaulis</i>	3.9	1.9	4.1	1.7	16.1	1.6	44.7	1.6	28.0
Raíz de <i>T. punctulata</i>	2.9	1.0	29.1	0.9	6.1	5.5	45.1	1.1	43.0
<b>b) Hojarasca</b>									
Pa,Tk,Tm,Tp	4.4	1.31	8.44	3.58	27.23	10.83	46.8	1.59	29
Pa,Tk,Tp	4.2	1.13	5.99	3.08	24.44	7.13	48.0	1.61	30
Pa,Tk,Tm	4.4	1.19	6.70	3.54	26.94	7.35	47.9	1.69	28
Pa,Tm,Tp	4.3	1.37	6.86	3.48	25.74	7.90	47.7	1.71	28
Pa,Tk	4.3	1.25	6.00	2.98	27.11	7.09	48.3	1.57	31
Pa,Tm	4.4	1.35	6.79	3.44	29.53	8.12	47.4	1.58	30
Pa,Tp	4.3	1.31	5.82	2.88	24.41	9.15	47.1	1.65	29
Pa	4.5	1.60	6.09	3.08	23.72	8.68	47.3	1.71	28
Tk,Tm,Tp	4.3	1.37	5.82	2.93	27.71	7.60	47.1	1.45	32
Tk,Tp	4.4	1.34	5.69	2.78	26.75	9.55	46.2	1.67	28
Tk,Tm	4.3	1.48	6.61	3.23	28.08	7.09	47.6	1.61	30
Tm,Tp	4.3	1.58	6.52	3.24	26.66	8.52	47	1.62	29
Tm	4.3	1.58	7.15	3.40	23.45	6.97	47.8	1.71	28
Tp	4.2	1.41	5.75	2.74	24.27	6.34	48.1	1.83	26

Tk	4.2	1.51	6.70	3.08	23.86	7.40	47.4	1.72	28
Control	4.3	1.60	6.00	2.73	25.18	9.40	46.1	1.77	26
<b>c) Suelo suspendido</b>									
Pa,Tk,Tm,Tp	4.3	2.06	8.44	2.52	16.93	27.56	39.3	4.51	1.64
Pa,Tk,Tp	4.4	2.12	6.35	2.07	21.10	19.73	42.6	4.87	1.81
Pa,Tk,Tm	4.6	2.11	9.79	2.21	23.32	31.97	38.9	4.43	1.78
Pa,Tm,Tp	4.5	2.21	6.78	2.24	20.95	26.61	41.8	4.85	1.83
Pa,Tk	4.2	1.95	5.73	1.92	20.27	16.37	43.5	5.00	1.82
Pa,Tm	4.4	2.18	6.69	2.12	23.61	18.13	43.1	5.09	1.94
Pa,Tp	4.3	2.30	6.08	2.07	21.12	17.26	43.7	4.94	1.92
Pa	4.4	2.18	6.52	2.07	21.07	18.30	43.1	4.97	1.99
Tk,Tm,Tp	4.4	2.29	9.66	2.62	16.41	18.18	43.7	4.91	1.81
Tk,Tp	4.5	2.24	7.49	2.17	19.55	25.75	40.5	4.59	1.79
Tk,Tm	4.2	2.01	7.22	2.07	18.83	21.79	40.4	4.83	1.77
Tm,Tp	4.4	2.41	7.28	2.27	16.09	17.26	42.9	5.09	1.91
Tm	4.5	2.42	6.79	2.17	20.05	17.17	43.1	5.18	2.03
Tp	4.4	2.35	7.12	2.22	17.35	18.85	41.9	4.84	1.97
Tk	4.5	2.12	6.96	2.07	21.30	20.56	42.9	4.95	1.97
Control	4.8	2.59	11.42	2.32	15.01	55.40	29.6	3.23	1.68

**Cuadro S6.** Valores de correlación de Pearson entre el pH y la composición de nutrientes de de hojas, rizoma/raíz de cuatro especies de plantas epífitas, la hojarasca y el suelo suspendido retenidos en un experimento donde las especies estuvieron en coocurrencia.

	P	Na	K	Ca	Mg	%C	%N	C/N
pH	0.20	-0.59	0.51	0.76	0.48	-0.35	0.63	-0.71
P		0.48	0.23	-0.09	0.47	-0.40	0.73	-0.64
Na			0.04	-0.53	-0.03	0.11	-0.11	0.23
K				0.74	-0.02	0.27	0.43	-0.41
Ca					0.02	0.15	0.44	-0.48
Mg						-0.94	0.40	-0.60
%C							-0.29	0.51
%N								-0.94

## **CAPÍTULO 4**

**¿Las especies epífitas asisten la germinación entre ellas? Un experimento en un bosque mesófilo de montaña del sureste de México**

## Resumen

En el dosel, las plantas epífitas pueden establecer interacciones estrechas, especialmente entre aquellas plantas que comparten rizosfera en carpetas de epífitas; sin embargo, poco se sabe acerca de cómo se crean estas carpetas. Una hipótesis es que las carpetas se crean al facilitar el establecimiento mutuo de las especies. En dosel de un bosque mesófilo de montaña, sobre arboles de *Quercus leiophylla*, probamos el efecto del nodrizaje de cuatro especies de epífitas frecuentes en suelos suspendidos y dos controles (ramas y un sustrato inerte) en la germinación de esporas/semillas de las mismas epífitas usadas como nodrizas. Encontramos dos patrones de germinación: para las tres especies de *Tillandsia* la germinación es mayor en sustratos inertes y/o sobre el helecho *Phlebodium areolatum*, mientras que la menor germinación ocurrió bajo nodrizas de especies congéneres incluyendo la misma especie y la germinación disminuyó con la altura. Para el *P. areolatum* ocurrió un patrón inverso, la mayor germinación ocurrió en nodrizas, mientras que la menor germinación ocurrió en los controles; además la altura y la imbibición previa de las esporas aumentaron la germinación. Este es el primer trabajo que muestra los efectos en la germinación de las interacciones planta-planta (nodrizas) en las carpetas de epífitas, los datos señalan que la germinación de *P. areolatum* es asistida por nodrizas, al ser esta una especie clave para la formación de suelo suspendido, el suelo suspendido es el resultado directo de una interacción. Mientras que la mejor germinación de las *Tillandsia* fuera de suelos suspendidos las señala como especies pioneras, que ayudan a la fundación de carpetas de epífitas, pero que pueden ser más frecuentes fuera de estas.

**Palabras claves:** Nodrizas, Competencia, Facilitación, Bromeliaceae, Polypodeaceae

## Introducción

Las interacciones entre las plantas determinan la dinámica y estructura de sus comunidades (Callaway *et al.* 1995; Matthew *et al.* 2009; Chaves & Rossatto 2020). En el dosel coexisten diferentes sistemas de interacciones planta-planta, entre estos están aquellos entre forofito-epífita (Benzing 1990) y epífita-epífita (Valencia-Díaz *et al.* 2012; Jian *et al.* 2013, Victoriano-Romero *et al.* 2020). Ambos sistemas co-ocurren en un mismo espacio y generan interacciones directas o indirectas que generan costos y beneficios entre las especies (Flores-Palacios *et al.* 2014).

Las interacciones hospedero-epífita han sido mayormente estudiadas (Zotz 2016). Básicamente la abundancia y diversidad de las epífitas ha sido explicado por las características de los árboles (e.g. edad, tamaño, tipo de corteza, estructura del dosel) (Wagner *et al.* 2015; Zotz 2016), ya que éstas pueden permitir o limitar el establecimiento de las epífitas (Vergara-Torres *et al.* 2010; Valencia-Díaz *et al.* 2012; Victoriano-Romero *et al.* 2017). Por otra parte, se han sugerido efectos benéficos de las epífitas en los árboles que incluyen el amortiguamiento de la temperatura y la provisión de recursos como nutrientes y agua (por medio de raíces apogeotropicas o cuando las epífitas caen al suelo del bosque) (Nadkarni 1981; Veneklass *et al.* 1990; Coxson & Nadkarni 1995; Freiberg 2001; Stuntz *et al.* 2002; Leary *et al.* 2004; Stanton *et al.* 2014).

Las interacciones entre epífitas han sido poco estudiadas, sugiriendo que existen tanto facilitación como competencia entre ellas (Valencia-Díaz *et al.* 2012; Jian *et al.* 2013; Chaves & Rossatto 2020; Victoriano-Romero *et al.*, en preparación). Con una excepción (Victoriano-Romero *et al.*, en preparación), la poca información existente se basa en especies congéneres del género *Tillandsia*, de bosque tropical caducifolio, donde se estudian pares de especies de manera aislada (Valencia-Díaz *et al.* 2012, Chaves & Rosatto 2020), dejando de lado

sistemas donde existe mayor riqueza de especies y abundancia de epífitas (e. g. bosque mesófilo de montaña). Ejemplo de estos grandes conjuntos de especies son las carpetas de epífitas con presencia de suelo suspendido (Victoriano-Romero *et al.* 2020).

Las carpetas de epífitas se definen como grupos mono o poliespecíficos de individuos de epífitas que comparten una rizosfera y están separados de otro grupo (Victoriano-Romero *et al.* 2020). La mayor frecuencia de carpetas de epífitas es encontrada en el dosel de bosques tropicales húmedos de montaña y en estos ambientes las carpetas acumulan grandes biomásas y son de gran volumen (Gotsch *et al.* 2016). Las carpetas de epífitas contribuyen al bosque como fuentes de recursos y hábitats para los organismos del dosel (Gotsch *et al.* 2016; Ortega-Solís *et al.* 2017). En este tipo de microhábitat, las interacciones epífita-epífita están mediadas por el hecho de compartir rizosfera y estas interacciones pueden influir en el desarrollo de la comunidad de epífitas que integra la carpeta (Victoriano-Romero *et al.* 2020). Se han estudiado experimentalmente los efectos mutuos de especies frecuentes de los suelos suspendidos en la supervivencia y crecimiento de sus ramets (Victoriano-Romero *et al.* en preparación). Encontrando que los ramets compiten entre sí, afectando principalmente la supervivencia mutua, pero también reduciendo su crecimiento. No obstante, los estudios en las etapas tempranas, como la germinación, son cruciales para entender la dinámica de las comunidades de epífitas (Toledo-Aceves *et al.* 2012).

La germinación es el primer proceso donde las semillas se enfrentan a los efectos ambientales (luz, humedad, precipitación) y bióticos (especies interactuantes) (Mondragón & Calvo-Irabién 2006). Diversos estudios han abordado la germinación y establecimiento de epífitas en bosque tropicales húmedos de montaña (Winkler *et al.* 2005; Toledo-Aceves & Wolf 2008; Hietz *et al.* 2011; Toledo-Aceves *et al.* 2012; Winkler *et al.* 2015), en ellos la germinación *in situ* no rebasa el 32% (Winkler *et al.* 2005; Toledo-Aceves *et al.* 2012),

atribuyendo esta magnitud de germinación al microclima, sustrato, árboles hospederos o incluso a la selección de semillas no viables (Toledo-Aceves *et al.* 2012). Siendo desconocido el efecto biótico en la germinación, es decir las interacciones epífita-epífita, especialmente *in situ*.

En un bosque tropical caducifolio, experimentos *in vitro* muestran que las epífitas pueden inhibir la germinación de semillas de especies simpátricas por alelopatía y estos efectos son más fuertes entre congéneres de la misma forma funcional (i.e. *Tillandsia* atmosféricas, Valencia-Díaz *et al.* 2012). Los compuestos alelopáticos pueden producirse desde diferentes tejidos (vivos o muertos) de las plantas e influir en la germinación de semillas (Turk *et al.* 2003). En los ambientes húmedos, la gran acumulación de suelo suspendido en las carpetas de epífitas puede generar condiciones favorables en microclima y fuente de recursos para otras especies (nutrientes y almacenamiento de agua) (Gotsch *et al.* 2016). No obstante, esta alta concentración de suelo suspendido está dada por especies clave en su retención (Victoriano-Romero *et al.* 2020). Por lo que se esperaría que la interacción de rizosferas esté influyendo en el establecimiento de las especies de epífitas frecuentes de los suelos suspendido, pero no existen experimentos que lo demuestren.

En un bosque de montaña del centro de Veracruz, las especies *Phlebodium areolatum* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) J. Smith (Polypodiaceae), *Tillandsia kirchhoffiana* Wittm, *T. multicaulis* Steudel y *T. punctulata* Schltd. & Cham (Bromeliaceae) son las más frecuentes en carpetas de epífitas (Flores-Palacios & García-Franco 2004; Victoriano-Romero *et al.* 2020). Entre estas, el helecho *P. areolatum* es una especie asociada al incremento del volumen de suelo suspendido, a su creación, y sus hojas y rizomas tienen alta concentración de nutrientes, así que podría facilitar a otras epífitas (Victoriano-Romero *et al.* 2020, en preparación). No obstante, la frecuencia de carpetas mono-específicas o poliespecíficas de

*Phlebodium areolatum* y del resto de especies de *Tillandsia* difiere (Victoriano-Romero *et al.* 2020), algunas especies son más frecuentes solas (e. g. *T. multicaulis*) mientras que otras lo son en carpetas poliespecíficas (e.g. *P. areolatum*). Esto sugiere que aquellas especies que se encuentran única o más frecuentemente en carpetas con *P. areolatum* podrían germinar mejor en presencia de este helecho; o por el contrario especies de epífitas solitarias (*T. multicaulis*) y/o frecuentes en carpetas con suelo suspendido (e.g. *T. kirchhoffiana*, *T. punctulata*) son las que facilitan el establecimiento de *P. areolatum* para después, en co-ocurrencia, formar carpetas donde se acumula suelo suspendido. Además, se ha sugerido a *T. punctulata* como especie nodriza de otras especies de epífitas (e.g. *Peperomia*), una especie nodriza es aquella que presente condiciones favorables a otras especies para su establecimiento y/o crecimiento (Hietz & Hietz-Seifert 1995).

En un fragmento de bosque mesófilo de montaña del sudoeste de México se determinó si las especies frecuentes de suelo suspendido ejercen un efecto nodriza al facilitar la germinación de sus propias semillas o de otras epífitas, especialmente aquellas que se encontraron única o más frecuentemente en carpetas con suelo suspendido (i.e. *T. punctulata*, *T. kirchhoffiana*); o si por el contrario especies frecuentes en suelo suspendido son facilitadas por alguna epífitas que es frecuente en solitario (i.e. *T. multicaulis*). Hipotetizamos que si las especies de epífitas frecuentes en suelo suspendido dependen de alguna especie para germinar; entonces, cuando se siembren semillas de estas especies en nodrizas de epífitas frecuentes de suelo suspendido se obtendrá mayor germinación que en ramas de los árboles y/o un sustrato inerte.

## Material y métodos

### Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en un fragmento de bosque mesófilo de montaña (11 ha), localizado en el municipio de San Andrés Tlanelhuayocan, Veracruz, México (19°31'05" N; 97°00'16" W; 1632-1653 m a.s.l). La temperatura media anual en el área es de 14°C y la precipitación de 1650 mm. La vegetación está dominada por *Quercus* spp. (Fagaceae), *Liquidambar macrophylla* Oerst. (Hamamelidaceae) y *Clethra macrophylla* M. Martens & Galeotti (Clethraceae) (Williams-Linera *et al.* 2002; Flores-Palacios & García-Franco 2008). En esta zona se han registrado 123 especies epífitas vasculares, las familias con más especies son Orchidaceae (40), Bromeliaceae (20), Polypodiaceae (10) y Dryopteridaceae (5). Las especies de epífitas frecuentes en los suelos suspendidos son *T. kirchhoffiana*, *T. multicaulis*, *T. punctulata* y *P. areolatum* (Flores-Palacios & García-Franco 2008; Victoriano-Romero *et al.* 2020).

### Colecta de material biológico y preparación de lotes de esporas/semillas

Para obtener las semillas de las tres especies de *Tillandsia*, de febrero a julio del 2018, en áreas circunvecinas en la zona de estudio se buscaron y colectaron plantas recientemente tiradas que tuvieran frutos en desarrollo y se trasladaron al CIβγC (UAEM), para monitorear la maduración y dehiscencia de los frutos. Los frutos de *T. multicaulis* abrieron en el periodo junio-julio de 2018, y se obtuvieron semillas viables de 14 individuos, de las cuales se hicieron 90 lotes, cada uno con 20 semillas, todos los lotes eran homogéneos porque tenían semillas de todos los individuos. Para las cápsulas de *T. kirchhoffiana* la dehiscencia ocurrió

de noviembre a diciembre de 2018. Se utilizaron semillas de 12 individuos para hacer 100 lotes homogéneos con 20 semillas. Las cápsulas de *T. punctulata* fueron dehiscentes en diciembre y enero, se hicieron 100 lotes homogéneos con 20 semillas de 16 individuos.

Para las esporas de *Phlebodium areolatum* se colectaron 30 hojas fértiles (1 por individuo), con esporangios maduros cerrados; para la liberación de las esporas cada hoja fue puesta en un sobre de papel manila (No. 1203, 160 x 240 mm), a temperatura ambiente, durante 72 horas (Hoshizaki & Moran 2001). Posteriormente cada muestra de esporas fue tamizada con una malla (Nitex Screen, modelo NTX50, 50  $\mu$  de apertura) y las esporas se almacenaron en un frasco de plástico (25 ml de capacidad y cubierto con papel aluminio) donde se mezclaron las esporas. De esta muestra de esporas se sacaron cinco lotes de peso conocido (0.0015 g) y en cada lote se hicieron 10 conteos de esporas. Con estos conteos se estimó que cada lote contenía en promedio  $12814 \pm 2942$  esporas (de aquí en adelante se reporta media  $\pm$  desviación estándar). Además, seguimos el método de Gómez-Noguez *et al.* (2016) para estimar la masa de las esporas y poder hacer suspensiones de esporas en agua destilada con una concentración aproximada de 100 esporas/10  $\mu$ l de suspensión. Ambos métodos fueron usados para el sembrado *in situ* de *Phlebodium areolatum* (esporas secas y esporas suspendidas en agua destilada). Este último método ha mejorado la germinación en esporas de helechos como respuesta a la memoria de hidratación activada al priming (Pedrero-López *et al.* 2019). Una vez creados los lotes experimentales de semillas/esporas se asignaron al azar a tratamientos de germinación *in vitro* e *in situ*.

### **Experimento de germinación *in situ***

Para probar experimentalmente si especies frecuentes en suelo suspendido facilitan a otras especies de epífitas durante la germinación, se realizaron experimentos *in situ* de siembra reciproca de esporas/semillas de las epífitas *P. areolatum*, *T. kirchhoffiana*, *T. multicaulis* y *T. punctulata*, en la rizosfera de las mismas especies.

Todos los lotes de semillas de las especies de *Tillandsia* se colocaron dentro de bolsas de malla tul (Gouda 2015) ( $3.5 \times 3.5$  cm, 1.5 mm de apertura, color blanco), mientras que los lotes de esporas de *Phlebodium areolatum* se colocaron dentro de bolsas de malla Nitex ( $3 \times 3$  cm,  $10 \mu$  de apertura, color blanco, Figura S1). En los experimentos *in situ* e *in vitro* (ver abajo) todos los sobres de malla tul o Nitex eran iguales entre tratamientos (i.e. mismo peso/volumen de esporas o número de semillas, tamaño de los sobres y materiales). El método de siembra en sobres de malla Nitex ha permitido medir *in situ* la germinación de semillas polvo, como las de orquídeas epífitas (Emeterio-Lara *et al.* 2018), en este caso las esporas de *P. areolatum* ( $40 \pm 3.3 \mu$  eje ecuatorial,  $25.5 \pm 4.7 \mu$  eje polar, ESEM, Zeiss, EvoLS10, Germany, Figura S2) son mucho más pequeñas que las semillas de orquídeas.

Para realizar el experimento se seleccionaron 10 árboles de *Quercus leiophylla* A. DC (Fagaceae), de esta forma se controló el efecto de la especie de árbol (Tejo-Haristoy *et al.* 2014). Cada árbol seleccionado debía ser seguro para ser escalado y debía contener carpetas monoespecíficas de las cuatro especies de epífitas (nodrizas). A estos árboles se les ascendió con el método de una cuerda (Jepson 2000) y se buscó un conjunto de carpetas monoespecíficas que estuvieran cercanas, en ramas interiores, y en el cual se pudieran colocar lotes de esporas/semillas, estas mismas carpetas se usaron con las esporas/semillas de todas las especies (altura de las carpetas, Cuadro S1). Dentro de cada árbol, se asignaron al azar

sobres con esporas/semillas de cada especie a seis tratamientos: sobre las raíces de cada una de las especies de *Tillandsia* (3 tratamientos: *T. kirchhoffiana*, *T. multicaulis* y *T. punctulata*), junto al rizoma de *Phlebodium areolatum*, a un control en un sustrato inerte (tubos de barro), y a un control en una rama sin epífitas (diámetro  $8.97 \pm 3.96$ ) (Figura S1). Cada lote de esporas/semillas se sujetó a su tratamiento con cinchos de plástico y cinta de amarre (Alma metálica con recubrimiento plástico, No. 7550, 30 cm, SANTUL) (Figura S1).

Para evitar usar esporas/semillas inmaduras en las que la germinación *in situ* disminuye, se esperó hasta que los frutos abrieran naturalmente; entonces, debido a la fenología natural de maduración de las esporas/semillas de las especies de epífitas, primero se colocaron los sobres de semillas de *T. multicaulis* y *P. areolatum* (agosto de 2018), ambas se monitorearon mensualmente hasta el 11 de noviembre de 2018, cuando se retiraron del campo y se hicieron conteos de germinación. Mientras que los lotes de *Tillandsia kirchhoffiana* se colocaron en diciembre de 2018, y los de *T. punctulata* en enero de 2019. Los lotes de estas dos especies se monitorearon mensualmente hasta su retiro del campo (6-7 de agosto de 2019). Simultáneamente, con dataloggers (Hobos) se monitoreo la temperatura y la intensidad de luz en seis de los diez árboles seleccionados (Datos suplementarios Cuadro S2).

### **Germinación en *in vitro***

Para medir la viabilidad de las esporas/semillas sembradas *in situ* y el efecto en ésta de la malla o los tubos de barro usados en los tratamientos *in situ*, se hicieron pruebas de germinación *in vitro*. Previo a las siembras en laboratorio, las esporas/semillas fueron desinfectadas. Las semillas de *Tillandsia* se desinfectaron en una solución de hipoclorito de sodio al 0.25% por 90 segundos, inmediatamente después se enjuagaron tres veces con agua

destilada. La desinfección para los lotes de *P. areolatum* se realizó con una solución de hipoclorito de sodio al 0.5% en agua destilada y dos gotas de Tween (por cada 100 ml de solución), la solución desinfectante y las esporas se agitaron por 10 minutos, después se enjuagaron con agua destilada tres veces y las esporas fueron centrifugadas a 200 rpm por tres minutos, todo en una campana de flujo laminar.

Para *Tillandsia multicaulis* diez lotes fueron sembrados en cajas Petri, sin la bolsa de malla (Figura S3D). Otros diez lotes fueron sembrados en cajas Petri pero las semillas fueron retenidas dentro de la bolsa de malla (Figura S3E). Y diez lotes fueron sembrados sobre tubos de barro dentro de malla (Figura S3B). Para las esporas de *P. areolatum* se siguió un diseño similar al de *T. multicaulis*, pero en esta especie los tres tipos de sembrado (caja Petri con/sin malla y tubos de barro con malla) se probaron con lotes experimentales de esporas provenientes del pesado en seco y de suspensión con esporas. Para *Tillandsia kirchhoffiana* y *T. punctulata* además de los tres tratamientos mencionados en *T. multicaulis*, diez lotes de semillas se sujetaron a tubos de barro sin bolsa de malla (Figura S3C).

Para las especies de *Tillandsia*, el tratamiento en cajas Petri se realizó usando como sustrato papel filtro (90 mm de diámetro) y 4 ml de agua destilada. Para las esporas de *P. areolatum* en el tratamiento en cajas Petri, se utilizó como sustrato el medio Thompson (Klekowski 1969, Cuadro S3). Después de la siembra de esporas/semillas, todas las cajas fueron etiquetadas, selladas con parafilm y envueltas en plástico autoadherente. En el tratamiento de tubos de barro, estos se desinfectaron previamente con alcohol al 70%, se enjuagaron con agua destilada y se colocaron dentro de una bandeja de plástico con agua destilada que cubría la mitad del barro y sellada con plástico autoadherente.

Todas las unidades experimentales (cajas Petri, tubos de barro), se colocaron en una cámara ambiental (Lmistell ICP-55 México), con un fotoperiodo de 12 h luz a 19.1° C, 12 h

oscuridad a 15.4°C. La temperatura utilizada corresponde al promedio de los meses junio, julio y agosto de 2017 de la zona de estudio (N. F. Alzate-Quintero, datos no publicados). Para las especies de *Tillandsia* se consideró una semilla germinada cuando la semilla se hinchaba, se volvía verde y rompía la testa (Figura S3B-E) (Valencia-Díaz *et al.* 2010), para las esporas de *P. areolatum* se consideró germinada cuando se apareció la primera célula protálica (Figura S3A) (Pérez-García *et al.* 1996), en algunos casos se observó el desarrollo de gametofitos (ESEM, Zeiss, EvoLS10, Germany) (Figura S4). En las *Tillandsia* se contó cada 72 horas el número de semillas germinadas o no. En *P. areolatum* con la ayuda de un microscopio (Leica DM500, Suecia) se contó el número de esporas germinadas o no de cada unidad experimental (barro/caja), en 10 campos ópticos a 4X para cada caja Petri y a 10X para cada bolsa de malla en barro.

### **Análisis de datos**

Para analizar si la germinación *in vitro* difería entre tratamientos, se hicieron análisis de supervivencia con modelos de riesgo proporcional de Cox (Cox-proporcional Hazard; Kleinbaum & Klein 2005; Crawley 2013). Para las especies de *Tillandsia*, el factor fue el tratamiento de germinación (niveles: caja Petri con/sin malla, tubos de barro con/sin malla). Se hicieron los análisis directamente entre los tratamientos porque no siempre se hizo el tratamiento sin malla (e.g. las esporas de *P. areolatum* no pueden ser puestas en tubos de barro, sin estar en una bolsa de malla), así que no siempre estuvieron cruzados los factores (caja Petri vs. barro; con vs. sin malla). En el caso de *T. punctulata* el modelo daba resultados anómalos y no era posible determinar diferencias entre los tratamientos, así que se analizó con un modelo de riesgo proporcional de Cox donde si se probaron los factores tipo de

soporte (dos niveles: caja Petri, tubo de barro), presencia de malla (dos niveles: con, sin) y la interacción entre estos.

Para analizar la germinación de *P. areolatum* no se pudieron hacer análisis similares a los de las *Tillandsia*, debido a que la germinación se contabilizó sólo al final del experimento y entonces no se siguió en el tiempo (sólo se hizo un conteo final a dos meses después de sembrar las esporas). Para esta especie se hizo un modelo lineal generalizado binominal, con función liga logit (GLM, Crawley 2013). El único factor en el modelo fue el tipo de tratamiento, con seis niveles: lote seco con malla en caja Petri, lote seco sin malla en caja Petri, lote seco con malla en tubo de barro, lote en suspensión con malla en caja Petri, lote en suspensión sin malla en caja Petri, lote en suspensión con malla en tubo de barro.

La germinación de semillas de *Tillandsia multicaulis in situ* se analizó con un modelo de riesgo proporcional de Cox (Kleinbaum & Klein 2005; Crawley 2013). En este modelo se analizó el efecto en la germinación del tipo de nodriza donde se puso el lote de semillas (seis niveles: en raíces de *P. areolatum*, *T. kirchoffiana*, *T. multicaulis*, *T. punctulata*, en barro o en una rama sin epífitas), la altura a la que fue sembrado el lote y la interacción entre el tipo de nodriza por la altura.

Debido a que la germinación de *Tillandsia kirchoffiana* y *T. punctulata* tuvo poca variación en el tiempo y la germinación de esporas de *P. areolatum* se contabilizó en un sólo momento, no fue posible analizarlas con modelos de supervivencia. Entonces, para estas especies se hicieron modelos lineales generalizados binomiales, con función liga logit (Crawley 1996). Para cada especie los efectos que se probaron fueron los mismos que con *T. multicaulis*.

Todos los análisis fueron hechos en R (versión 3.6.2, R Core Team 2019), los de supervivencia usando la librería survival (Therneau 2015) y los modelos lineales

generalizados en el ambiente genérico. Cuando se requirió, se hicieron comparaciones múltiples por el método de contraste, utilizando la librería multcomp (Hothorn *et al.* 2008). Las gráficas de Kaplan-Meier se hicieron utilizando las librerías ggplot2 (Wickham 2016) y survminer (Alboukadel *et al.* 2019).

## Resultados

### Germinación *in vitro*

La germinación *in vitro* para las tres especies de *Tillandsia* osciló entre el 65-98% en un intervalo común de hasta 46 días. *Tillandsia kirchhoffiana* y *T. multicaulis* mostraron porcentajes de germinación similares entre los tratamientos ( $\chi^2 = 2.2847$ , g.l. = 3, P = 0.51;  $\chi^2 = 0.2873$ , g.l. = 2, P = 0.86), en ambas la germinación en laboratorio fue  $\geq 90\%$  (Cuadro 1). La germinación de *T. punctulata* fue diferente entre soportes ( $\chi^2 = 54.528$ , g.l.= 1, P = 1.533e-13) y en presencia de la malla ( $\chi^2 = 9.4474$ , g.l.= 1, P = 0.002115), pero no difirió en la interacción soporte por malla ( $\chi^2 = 0.0512$ , g.l.= 1, P = 0.821). Las semillas de *T. punctulata* germinan menos y más lentamente en la caja Petri (Figura 1A). Mientras que germinan más lentamente con malla, pero el porcentaje final de germinación es similar en presencia o ausencia de la malla (Figura 1B).

La germinación *in vitro* de *Phlebodium areolatum* osciló entre el 30-64% después de 61 días. Mostrando diferencias entre tratamientos ( $\chi^2 = 997.4$ , g.l. = 5, P < 0.0001), el tratamiento de barro con esporas pesadas en seco fue el de más baja germinación y el tratamiento de caja Petri, con malla, esporas pesadas en seco, el de mayor germinación (Cuadro1). En general la germinación disminuyó en barro vs. caja Petri y en barro la

germinación mejoró cuando las esporas venían suspendidas en agua, pero no en caja Petri (Cuadro1).

Los datos de la germinación *in vitro* muestran que los lotes de esporas/semillas usados en el experimento *in situ* eran viables y que en las esporas de *Phlebodium areolatum* si hay un efecto del control barro (disminuyendo la germinación), mientras que las semillas de las especies de *Tillandsia* las semillas pueden germinar igual de bien en barro.

### **Germinación *in situ***

En el experimento de germinación *in situ* todos los lotes de esporas y todos los lotes de semillas sembrados en barro y ramas tuvieron al menos una espora/semilla germinada (Cuadro 2), lo que sugiere que la variabilidad espacial influyó poco en la probabilidad de observar que, en un lote, al menos una espora/semilla germinará. Lo mismo ocurrió con todos los lotes de esporas de *P. areolatum*, independientemente de la nodriza; mientras que en los lotes de semillas de *Tillandsia*, cuando estos estuvieron con una nodriza, la incidencia de germinación pudo ser menor al 100% (Cuadro 2).

La germinación promedio *in situ* para las cuatro especies de epífitas osciló entre 2.5-79%, y para cada especie siempre estuvo por debajo de la germinación promedio observada en condiciones *in vitro* (Cuadro 1). Observamos dos patrones de respuesta en la germinación *in situ*, uno para las esporas de *Phlebodium areolatum* y otro para las semillas de *Tillandsia*.

### Germinación *in situ* de *Phlebodium areolatum*

La germinación de esporas *in situ* de *Phlebodium areolatum* osciló entre el 15-43% después de 100 días del montaje del experimento (Cuadro 1) y estuvo significativa afectada por el tipo de nodriza, el lote de semillas (seco o en suspensión en agua), por la altura y las interacciones entre estos factores (Cuadro 3). El tipo de nodriza fue el factor más importante (mayor valor de  $\chi^2$ , Cuadro 3). Las comparaciones múltiples (método de contrastes,  $P < 0.05$ ) revelaron cuatro grupos de germinación, la mayor germinación ocurrió cuando la nodriza fue la misma especie de helecho (33.74%), que difiere de todas las demás nodrizas, seguida de la germinación en las nodrizas de las tres especies de *Tillandsia* (*T. kirchhoffiana* = 26.3%, *T. multicaulis* = 25.4% y *T. punctulata* = 26.5%) y entre ellas la germinación de esporas no difiere; mientras que la menor germinación se presentó en barro (19.79%) y rama (17.8%), difiriendo entre ellas.

En los lotes de esporas suspendidas en agua destilada la germinación fue del 30.36%, mientras que la germinación de las esporas que no estaban suspendidas en agua (pesadas en seco), fue 7% menor (23.15%). La germinación de *P. areolatum* en la interacción de los factores tipo de nodriza por el tipo de lote, siguió el mismo patrón que los efectos principales; con excepción de la germinación en las nodrizas de *T. multicaulis* y *T. punctulata*, en las nodrizas de *P. areolatum*, *T. kirchhoffiana*, barro y rama hubo mayor germinación cuando las esporas provinieron de los lotes de esporas suspendidas en agua destilada. Por otra parte, la germinación de los lotes en peso seco que se pusieron en la nodriza *P. areolatum* se igualó con la germinación en las nodriza de *Tillandsia* en solución ( $\leq 35\%$ ), y las esporas que estaban en solución y en las nodrizas de *T. kirchhoffiana* aumentaron su germinación, volviéndose similar a la germinación en la nodriza *P. areolatum* (Cuadro 3). En las nodrizas de *T.*

*punctulata* y *T. multicaulis* el tipo de lote no afectó la germinación de las esporas de *P. areolatum*. Los lotes en peso seco sembrados en rama fueron los que presentaron la menor germinación (15.86%) (Cuadro 3).

La altura tuvo un efecto general positivo en la germinación de esporas (coeficiente=0.059472). La interacción del efecto de la altura con los tipos de nodriza muestra que el efecto de la altura difiere entre tres grupos de nodrizas (A, B y C). En el grupo A, el efecto de la pendiente es más pronunciado e incluye a la germinación de esporas de *P. areolatum* en nodrizas de *T. kirchhoffiana* (coeficiente = 0.136661) y *T. punctulata* (coeficiente = 0.131948). En el grupo B, el efecto de la altura es menor y en él está la germinación de las esporas en las nodrizas barro (Coeficiente= 0.059472) y *T. multicaulis* (coeficiente= 0.05455). En el grupo C, la germinación en nodrizas del helecho (coeficiente = 0.017934) y rama (coeficiente = 0.010051), es poco afectada por la altura. La interacción entre tipo de lote y altura muestran que en aquellas esporas que provenían de lotes en suspensión de agua, el efecto de la altura disminuye (coeficiente del efecto de la suspensión en agua = -0.063883). Este coeficiente ocasiona que el efecto de la altura en la germinación de esporas se mantenga positivo en el grupo A, se acentuó el efecto negativo en el grupo B y se invierte en el grupo C, de positivo a negativo. Por último, la interacción tipo de nodriza, tipo de lote y altura, sólo afecta a los lotes de esporas suspendidas en agua y a la germinación en las nodrizas *T. punctulata* (coeficiente =-0.033752) y helecho (coeficiente = 0.03785). En general mientras aumenta la altura aumenta la germinación, el efecto positivo de la altura fue mayor en el grupo A, mientras que en los lotes que vienen de solución en agua, el efecto de altura disminuye o se hace negativo, es decir a mayor altura disminuye su germinación.

### Germinación *in situ* de las especies de *Tillandsia*

La germinación general fue de 29.41 % en *T. kirchoffiana*, 54.91 % en *T. multicaulis* y de 27.16 % en *T. punctulata*. Entre los tratamientos y las especies la germinación *in situ* osciló entre 4.5 % y 79 % (Cuadro 1). Para todas las especies de *Tillandsia* los diferentes análisis mostraron el mismo patrón de resultados, la germinación de las semillas estuvo principalmente afectada por el tipo de nodriza, seguida de la interacción nodriza por altura y finalmente por el efecto de la altura (Cuadro 4).

El efecto del tipo de nodriza siguió un patrón bien definido en la germinación de las tres especies de *Tillandsia* (Cuadro 1). En todas las especies, la mayor germinación ocurrió sin nodrizas (en barro y rama; Cuadro 1). En la nodriza *P. areolatum*, la germinación de semillas de *T. multicaulis* fue similar a la observada en las nodrizas barro y rama (Figura 2), y para las semillas de *T. punctulata* la germinación en *P. areolatum* fue igual a la de rama (Cuadro 1).

En las tres especies de *Tillandsia*, la menor germinación se alcanzó cuando la nodriza fue una especie del mismo género. Este efecto tendió a ser más fuerte en las semillas de, y cuando la nodriza fue, *Tillandsia punctulata* (Cuadro 1). En todas las especies de *Tillandsia*, la germinación de semillas disminuyó con la altura, el efecto más fuerte de la altura ocurrió en *T. kirchoffiana* (-0.03212) y *T. multicaulis* (-0.004553) y el efecto fue más débil en *T. punctulata* (-0.0227). Aunque el efecto de la altura dependió del tipo de la nodriza (términos de interacción, Cuadro 4), los patrones de esta interacción no fueron consistentes. Por ejemplo, no fue posible aislar diferencias entre los coeficientes de la interacción en *T. multicaulis* (Cuadro 5).

En *T. kirchoffiana*, el efecto negativo de la altura sobre la germinación de sus semillas fue más fuerte cuando las nodrizas fueron de *T. punctulata* (-0.395) o de *T. multicaulis* (-0.304) y desde estas hay un gradiente hasta *P. areolatum*, en esta nodriza el efecto de la altura en la germinación de semillas de *T. kirchoffiana* fue positivo y débil (Cuadro 5). Con excepción de rama, el efecto de altura en la germinación de semillas de *T. punctulata* fue similar entre todos los tipos de nodriza (Cuadro 5), en este tratamiento el efecto de la altura difirió únicamente del observado en las nodrizas *P. areolatum*, barro y *T. multicaulis* (Cuadro 5).

## **Discusión**

Los efectos de las interacciones planta-planta en las primeras fases del ciclo de vida son determinantes para el establecimiento de las plantas e influyen en la estructura de las comunidades (Valencia-Díaz *et al.* 2012; Toledo-Aceves *et al.* 2012). En las plantas epífitas los pocos estudios han sugerido que existen mayormente efectos negativos que positivos en la germinación (Valencia-Díaz *et al.* 2012). Lo que tiene sentido para evitar la competencia por recursos (Goldberg & Werner 1983). No obstante, en las carpetas de epífitas, éstas co-ocurren y comparten rizosfera en grupos de hasta seis especies (Victoriano-Romero *et al.* 2020), lo que sugiere que podría haber mecanismos de facilitación. Hasta ahora no existe ningún estudio que pruebe qué efectos ocurren en las etapas iniciales de la formación de carpetas de epífitas. Nosotros encontramos que las plantas epífitas frecuentes de suelo suspendido pueden tanto facilitar como limitar la germinación de otras especies o incluso de su misma especie. Esto es, la germinación de algunas especies (*Tillandsia*) es mejor en sustratos inertes, ramas o cuando las semillas caen en una nodriza de *P. areolatum*. Esta especie de helecho es clave en la retención de suelo suspendido (Victoriano-Romero *et al.*

2020) y ni el sustrato inerte, ni las ramas mejoran su germinación, pero si las nodrizas de *Tillandsia*. Entender los patrones de germinación en las carpetas de epífitas nos ayuda a entender la dinámica de las comunidades y puede mejorar los procesos de germinación en proyectos de conservación en especies de epífitas, ya que algunas especies son exclusivas del suelo suspendido.

### **Germinación *in situ* de *Tillandsia***

La germinación *in vitro* es un método para conocer si las semillas son viables y ponderar el éxito de un lote experimental al ser expuesto a tratamientos *in situ* (Toledo-Aceves *et al.* 2012; Flores-Palacios *et al.* 2015). En diversos estudios se han sembrado semillas de *Tillandsia in vitro* y se han alcanzado porcentajes de germinación de 80-100% (Fernández *et al.* 1989; Mondragón & Calvo-Irabién 2006; Toledo-Aceves & Wolf 2008; Goode & Allen 2009; Zotz & Reuter 2009; Hietz *et al.* 2011; Toledo-Aceves *et al.* 2012; Flores-Palacios *et al.* 2015). Nosotros obtuvimos porcentajes de germinación de *Tillandsia* desde 65-98% de germinación *in vitro*. Además, probamos el efecto de barro como sustrato inerte, en este sustrato la germinación de semillas de *Tillandsia* ha sido similar a la observada en cajas Petri e *in situ*, incluso puede estar por encima que la germinación en las propias ramas de los árboles (Victoriano-Romero 2013). Debido a que las semillas de *Tillandsia* germinan mejor con un suministro de agua constante en laboratorio (Flores-Palacios *et al.* 2015), las germinaciones *in situ* reflejan los efectos de los factores bióticos y abióticos que influyen en el establecimiento de las plantas epífitas (Mondragón & Calvo-Irabién 2006; Toledo-Aceves *et al.* 2012; Mondragón *et al.* 2015).

En el bosque estudiado, los datos de germinación *in situ* de las especies de *Tillandsia* fueron menores a los de la germinación *in vitro*, pero el gradiente de germinación que observamos muestra que las interacciones biológicas son más importantes que el gradiente ambiental. En principio, la ocurrencia de germinación fue del 100% en los lotes sembrado en barro, un sustrato inerte y este sustrato estuvo en el grupo de sustratos donde ocurrió la mayor germinación de todas las especies de *Tillandsia*. La germinación disminuyó una vez que las semillas de *Tillandsia* estuvieron en interacción con alguna especie de epífita. A diferencia de las epífitas, *Quercus leiophylla* no inhibe la germinación de las semillas de las especies de *Tillandsia*. El hecho de estas especies de *Tillandsia* pueden germinar en cualquier sustrato inerte (barro, como ya se había reportado en otras especies; Victoriano-Romero 2013), así que este sustrato podría ser incorporado para la reproducción comercial de estas especies de epífitas en la horticultura.

La germinación *in situ* de las semillas de las *Tillandsia* se ha explicado tanto por factores ambientales (luz, humedad) como por factores bióticos (fitoquímicos, alelopatía, facilitación de nodrizas) (Hietz & Hietz-Seifert 1995; Mondragón & Calvo-Irabién 2006; Hietz *et al.* 2011; Valencia-Díaz *et al.* 2012; Mondragón *et al.* 2015), estos factores disminuyen la germinación, tanto en ambientes secos como húmedos, en comparación con la que ocurre en el laboratorio (Winkler *et al.* 2005; Mondragón & Calvo-Irabién 2006; Toledo-Aceves *et al.* 2012; Victoriano-Romero E. 2013; Winkler *et al.* 2015).

La germinación de especies de *Tillandsia* en el bosque mesófilo de montaña ha sido estudiada antes y explicada por la humedad y posición dentro del dosel (Winkler *et al.* 2005; Toledo-Aceves & Wolf 2008; Hietz *et al.* 2011; Toledo-Aceves *et al.* 2012). Nuestros resultados muestran que la germinación *in situ* de las semillas de *Tillandsia* fue mayor (hasta el 60-79%) a las reportadas para *T. multicaulis* (0.2-14%) y *T. punctulata* (32%) (Winkler *et*

al. 2005; Toledo-Aceves *et al.* 2012), para *T. kirchhoffiana* su germinación osciló entre 7 y 61.5%. La germinación de estas especies de *Tillandsia* siguieron un patrón similar, donde la mayor germinación ( $\geq 56-79\%$ ) ocurrió en las ramas, barro (sustrato inerte) e incluso en la nodriza de *P. areolatum* (72.5% para *T. multicaulis*) y fue menor entre congéneres. *Phlebodium areolatum* asistió la germinación de semillas de *Tillandsia* en un 2.4 y 12.8 veces más que nodrizas de su misma especie para *T. kirchhoffiana* y *T. punctulata*. Lo que sugiere que las nodrizas de las especies de *Tillandsia* limitan la germinación de semillas de su misma especie y de otras especies de *Tillandsia*, siendo más marcado el efecto negativo en la germinación la nodriza de *T. punctulata*. Este patrón de competencia coincide con lo encontrado en otros trabajos, donde la germinación *in vitro* de varias especies de *Tillandsia* disminuye en presencia de extractos de *Tillandsia recurvata* (L.) L. (Valencia-Díaz *et al.* 2012). Además, muestra que la competencia entre las especies estudiadas de *Tillandsia* ocurre al limitar el establecimiento mutuo, es más intensa con *T. punctulata* y no sólo en la etapa adulta, cuando la competencia entre ramets disminuye las supervivencias y los crecimientos mutuos (Victoriano-Romero en preparación). Se ha hipotetizado que especies nodrizas que ofrezcan condiciones favorables para la germinación, coocurrirán mayormente con otras especies de epífitas (Hietz & Hietz-Seifert 1995) y que *T. punctulata* podría ser una especie nodriza; nuestros datos soportan parcialmente la idea de nodrisismo en el dosel, pero no entre las especies de *Tillandsia*, esto no descarta que las *Tillandsia* puedan ejercer un efecto nodriza hacia especies de epífitas filogenéticamente lejanas, como ha sido sugerido con *Peperomia* (Hietz & Hietz-Seifert 1995).

La competencia entre especies de *Tillandsia* durante la germinación, puede explicar su distribución y co-ocurrencia (Chaves & Rossatto 2020). En el dosel del bosque estudiado, *T. kirchhoffiana* y *T. punctulata* se encuentran más frecuentemente asociadas con carpetas

con presencia de suelo suspendido y *P. areolatum* (Victoriano-Romero *et al.* 2020). Este patrón de distribución concuerda con la menor germinación en nodrizas congéneres y la mayor germinación en nodriza de *P. areolatum*, lo que significa que *P. areolatum* es clave en la dinámica de las carpetas de epífitas al facilitar la germinación.

A diferencia de la distribución de *T. kirchoffiana* y *T. punctulata*, *T. multicaulis* es más frecuente en carpetas monoespecíficas, sin asociarse significativamente a los suelos suspendidos (Victoriano-Romero *et al.* 2020), así que la mayor germinación de esta especie en presencia de *P. areolatum* no se puede explicar la distribución de los adultos. *Tillandsia multicaulis* germinó más que las otras especies, posiblemente porque la producción de semillas está mejor sincronizada con las lluvias, así que una mayor germinación en sustratos no colonizados por epífitas y tal vez la competencia entre ramets en las carpetas, podría explicar su menor frecuencia en carpetas con *P. areolatum*.

No existe una correlación clara entre la posición del dosel y la germinación *in situ*, sólo a menor exposición en el dosel, mayor humedad y se acorta el tiempo de germinación (Winkler *et al.* 2005). En condiciones *in vitro* para algunas especies de *Tillandsia* pueden germinar en condiciones con o sin luz (Flores-Palacios *et al.* 2015). Nuestros resultados soportan estos patrones observados, donde en general a mayor altura disminuye la germinación de las especies de *Tillandsia*, lo que sugiere que a pesar de ser especies con mayor tolerancia a la sequía, en el proceso de germinación de semillas necesitan de menor exposición a la luz.

### **Germinación *in situ* de *P. areolatum***

A diferencia de los helechos terrestres, los de hábito epífita han sido menos estudiados. En los helechos epífitos se ha sugerido la evolución de diferentes estrategias para habitar sobre los árboles (Mehltreter *et al.* 2010), sobre todo para enfrentar la desecación (Jian *et al.* 2013). Por ejemplo, algunas especies de helechos retienen humus entre sus hojas o forman nidos como hábitat para la fauna (Dubuisson *et al.* 2009). Las carpetas de epífitas amortiguan los efectos ambientales al incrementar la humedad (Freiberg 2001; Stuntz *et al.* 2002; Stanton *et al.* 2014). Los suelos suspendidos retienen mayor humedad que las ramas de los árboles (Gotsch *et al.* 2016), funcionando como un sitio seguro para el establecimiento de otras especies del ecosistema (Ortega-Solís *et al.* 2019). En el bosque estudiado, *Phlebodium areolatum* es una especie clave en la formación de los suelos suspendidos (Victoriano Romero *et al.*, 2020, en preparación).

El agua es un elemento clave para la germinación de las esporas de los helechos y se ha encontrado que un remojo previo de las esporas aumenta su germinación *in vitro* (Pedrero-López *et al.* 2019). En condiciones controladas el medio de cultivo mejora la germinación de helechos (Klekowski 1969). Nuestro trabajo mostró germinaciones de 30.5% en lotes de peso seco en barro con malla y hasta 63.9%, en lotes de peso seco en caja Petri con malla. Lo que sugiere que el medio de cultivo mejoró la germinación y la malla no fue una limitante; en el sustrato inerte, la germinación mejoró 1.6 veces cuando las esporas estuvieron en suspensión en agua que en peso seco. No obstante, cuando las esporas se enfrentaron a las condiciones del ambiente y efectos bióticos (nodrizas) su germinación fue distinta. La mayor germinación ocurrió en la nodriza de su misma especie (31-43%), seguidas de las nodrizas de las especies de *Tillandsia* (23.5-35%) y la menor germinación en el sustrato inerte y ramas (15-22%).

Este patrón fue contrario a la germinación de las *Tillandsia*, posiblemente porque las esporas del helecho necesitan de la humedad retenida en el suelo suspendido de su propia especie o del nodrizaje de las *Tillandsia* (Hietz & Hietz-Seifert 1995) mientras que la rama y el barro, al ser sustratos desnudos, no mantienen la suficiente humedad. Esto explica porque las carpetas monoespecíficas de *P. areolatum* son raras en el dosel (2.9%) y esta especie está más frecuentemente asociada a carpetas poliespecíficas (Victoriano-Romero *et al.* 2020). Colocar a las esporas en peso seco, como ocurre naturalmente, disminuye la germinación, así que darles un tratamiento donde se active su memoria de hidratación (Pedrero-López *et al.* 2019) es indispensable para asegurar germinaciones mayores e implementar este tratamiento en proyectos de restauración y conservación de helechos epífitos. Sin embargo, es posible que la hidratación previa también disminuyó el efecto de alelopáticos en la germinación, pues la imbibición de las esporas ocurrió con agua destilada y no con aquella que corre por la corteza. Estos efectos deben ser probados experimentalmente.

Para *P. areolatum*, a mayor altura (incidencia de luz) aumenta la germinación, esto se ha encontrado *in vitro* donde pequeñas cantidades de luz, con una temperatura constante, aumentan la germinación (Pérez-García *et al.* 2007). Los efectos fueron positivos en la germinación con mayor altura, pero a mayor exposición se esperaría menor humedad, a menos que la nodriza de las especies las asista y así las condiciones mejoren en las zonas altas del dosel. Por tanto, se vuelve importante la asistencia de plantas nodriza, en este caso el establecimiento de esta especie de helecho epífito en el dosel está ligado a la presencia de nodrizas (de su propia especie o de especies de *Tillandsia*, donde al menos para dos especies es frecuentemente asociada), y a diferencia de las *Tillandsia*, para *P. areolatum* *Q. leiophylla* es limitante para su germinación, como se ha reportado para árboles de ambientes secos (Victoriano-Romero 2013). En esta especie el sustrato inerte no se recomienda para su

germinación, a menos que exista un tratamiento de pre-hidratación para asegurar la germinación de los helechos epífitos.

## **Conclusiones**

En un bosque mesofilo de montaña de Veracruz, México, probamos por primera vez el efecto nodriza de las especies frecuentes de carpetas de epífitas con suelo suspendido, así como el efecto de las ramas de los árboles y de un sustrato inerte (barro) en la germinación de las mismas especies de epífitas. Trabajos previos han sugerido facilitación y mayormente competencia entre especie de epífitas (Valencia-Díaz *et al.*, 2012; Jian *et al.* 2013; Chaves & Rossatto 2020), pero hasta ahora este es el primer trabajo que muestra que tanto la competencia como la facilitación ocurren entre especies de epífitas en la germinación. Las especies de *Tillandsia* son más aptas a germinar en cualquier sustrato, pero existe competencia entre especies congéneres, ocurriendo lo contrario para el helecho, siendo más favorable germinar en la nodriza de su misma especie o en menor proporción en las nodrizas de las *Tillandsia*. El efecto de nodrizaje ocasiona patrones inversos entre las *Tillandsia* y el helecho, más que el efecto de la altura o el tipo de lote para *P. areolatum*. Lo que sugiere que las plantas epífitas de las carpetas están delimitadas por efectos nodriza.

## **Agradecimientos**

J. M. Saldaña Rojas por el apoyo en campo. A. Castrejón-Valera, G. Carmona-Castro, D. Cela-Cadena, E.C. Flores-Galván, A. Martínez-Virués, M. Mata-Rosas y D. Tapia-Maruri por la ayuda con los procedimientos de laboratorio. N. Alzate-Quintero quien amablemente nos proporcionó sus datos microclimáticos no publicados. Esta investigación fue financiada por IDEA WILD (EVR), Instituto de Ecología A.C. (No.-20030-144 de J.G. García-Franco)

y beca CONACYT de EVR (No. 274309). Esto es parte de la Tesis de Doctorado en Ciencias Naturales otorgada a EVR en la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

## **Bibliografía**

**Alboukadel K, Marcin K, Pryemyslaw B, Scheipl F. 2019.** Drawing Survival Curves using “ggplot2”, package “survminer” version 0.4.6, date 2019-09-03, URL: <http://www.sthda.com/english/rpkgs/survminer/>

**Benzing, D. H.: 1990,** ‘Vascular Epiphytes’, Cambridge University Press, Cambridge.

**Callaway RM. 1995.** Positive interactions among plants. *Botanical Review* **61**:306–349.

**Chaves CJN, Rossatto DR. 2020.** Unraveling intricate interactions among atmospheric bromeliads with highly overlapping niches in seasonal systems. *Plant Biology*

**Crawley MJ. 2013** *The R Book*. Chichester, West Sussex, United Kingdom: Wiley, Print.

**Coxson DS, Nadkarni NM. 1995.** Ecological roles of epiphytes in nutrient cycles of forest ecosystems. In: Lowman MD, Nadkarni NM, eds. *Forest canopies*. San Diego: Academic Press, 495–543.

**Dubuisson JY, Schneider H, Hennequin S. 2009.** Epiphytism in ferns: diversity and history. *Comptes Rendus Biologies*, **332** (2-3): 120–128. doi:10.1016/j.crv.2008.08.018

**Emeterio-Lara A, García-Franco JG, Hernández-Apolinar M, Valencia-Díaz S, Toledo-Hernández VH, Flores-Palacios A. 2018.** Endogamy costs and reproductive biology of *Laelia autumnalis*, an endemic orchid of Mexico. *Plant Ecology*, **219**: 1423–1434.

**Fernández LV, Beltrano J, Caldiz DO. 1989.** Germinación y longevidad de semillas de *Tillandsia recurvata* L. *Revista de la Facultad de Agronomía*, **65**: 81–85.

- Flores-Palacios A, García-Franco JG. 2004.** Effect of isolation on the structure and nutrient budget of oak epiphyte communities. *Plant Ecology* **173**: 259-269.
- Flores-Palacios A, García-Franco JG. 2008.** Habitat isolation changes the beta diversity of the vascular epiphyte community in lower montane forest, Veracruz, Mexico *Biodiversity and Conservation*, **17**: 191–207.
- Flores-Palacios A, Barbosa-Duchateau CL, Valencia-Díaz S, Capistrán-Barradas A, García-Franco JG. 2014.** Direct and indirect effects of *Tillandsia recurvata* on *Prosopis laevigata* in the Chihuahua desert scrubland of San Luis Potosi, Mexico. *Journal of Arid Environments*, **104**: 88–95.
- Flores-Palacios A, Bustamante-Molina AB, Corona-López AM, Valencia-Díaz S. 2015.** Seed number, germination and longevity in wild dry forest *Tillandsia* species of horticultural value, *Scientia Horticulturae*, **187**: 72–79
- Freiberg M. 2001.** The influence of epiphyte cover on branch temperature in a tropical tree. In: Linsenmair K.E., Davis A.J., Fiala B., Speight M.R. (eds) *Tropical Forest Canopies: Ecology and Management*. Forestry Sciences, **69**. Springer, Dordrecht.
- Goldberg DE, Werner PA. 1983.** Equivalence of competitors in plant communities: a hypothesis and field experimental approach. *American Journal Botany* **70**:1098–1104
- Gómez-Noguez F, Pérez-García B, Mehlreter K, Orozco-Segovia A, Rosas-Pérez I. 2016.** Spore mass and morphometry of some fern species. *Flora* **223**: 99–105.
- Gouda Eric J. 2015.** Sowing *Tillandsia* in a low-tech system- an illustrated manual. *Journal of the bromeliad society* 65 (1).
- Goode L. K, Allen MF. 2009.** Seed germination conditions and implications for establishment of an epiphyte, *Aechmea bracteata* (Bromeliaceae). *Plant Ecology* **204**: 179–188.

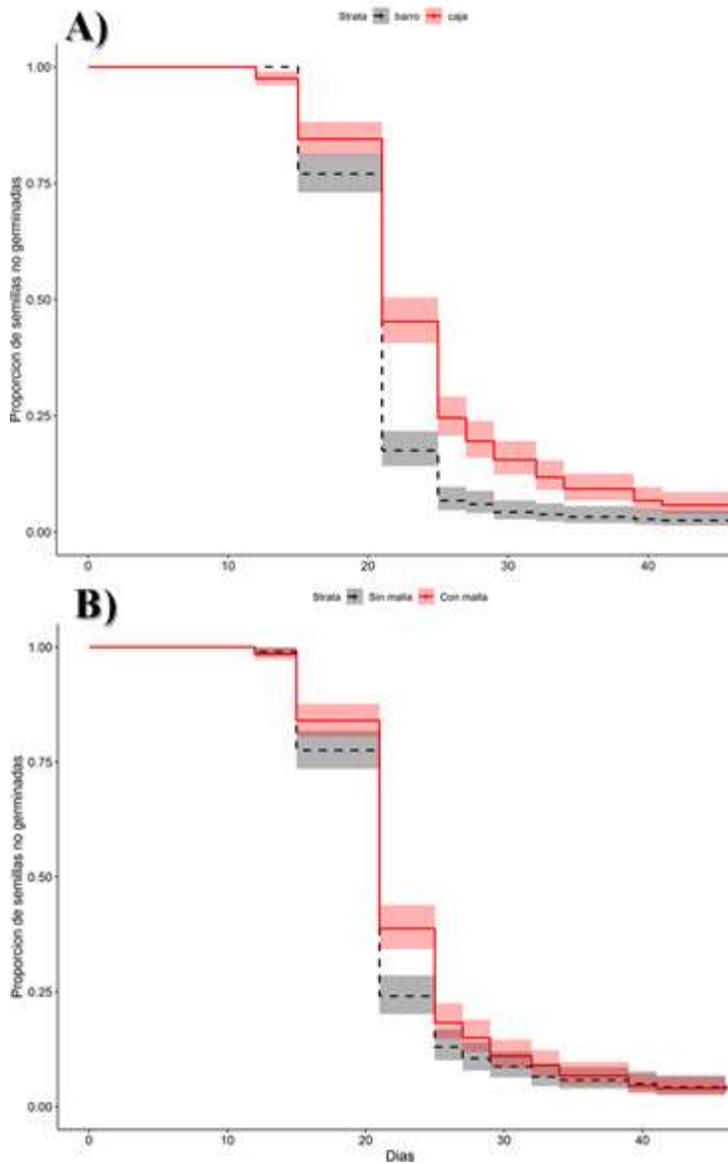
- Gotsch SG, Nadkarni NM, Amici AA. 2016.** The functional roles of epiphytes and arboreal soils in tropical montane cloud forest. *Journal of Tropical Ecology* **32**: 455–468.
- Hietz P, Hietz-Seifert U. 1995.** Intra- and interspecific relations within an epiphyte community in a Mexican humid montane forest. *Selbyana* **16** (2):135–140
- Hietz P, Winkler M, Scheffknecht S, Hülber K. 2011.** Germination of epiphytic bromeliads in forests and coffee plantations: microclimate and substrate effects. *Biotropica* **44**:197–204.
- Hoshizaki B, Moran RC. 2001.** Ferns grower's manual. Timber press.
- Hothorn T, Bretz F, Westfall P. 2008.** Simultaneous Inference in General Parametric Models. *Biometrical Journal* **50**(3): 346–363.
- Jepson J. 2000.** The tree climber's companion. J. Jepson, Rt. 1. Box 546, Longville, USA.
- Jian PY, Hu FS, Wang CP, Chiang JM, Lin TC. 2013.** Ecological facilitation between two epiphytes through drought mitigation in a Subtropical Rainforest. *PLoS ONE* **8**(5): e64599
- Kleinbaum DG, Klein M. 2005.** Survival Analysis. Editorial Springer. United States of America.
- Klekowski EJJr. 1969.** Reproductive biology of the Pteridophyta. III. A study of the Blechnaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **62**: 361–377.
- Leary JJK, Singleton PW, Borthakur D. 2004.** Canopy nodulation of the endemic tree legume *Acacia koa* in the mesic forests of Hawaii. *Ecology*, **85**: 3155–3157.
- Matthew GEM, Cahill FJ, Hik DS. 2009.** Plant Interactions Are Unimportant in a Subarctic-Alpine Plant Community. *Ecology*, **90** (9): 2360–2367.
- Mehlreter K, Walker LR, Sharpe JM. 2010.** Fern ecology, Cambridge: Cambridge University Press.

- Mondragón D, Valverde T, Hernández-Apolinar M. 2015** Population ecology of epiphytic angiosperms: A review, *Tropical Ecology*, **56** (1): 01–39.
- Mondragón D, Calvo-Irabién LM. 2006.** Seed dispersal and germination of the epiphyte *Tillandsia brachycauulos* (Bromeliaceae) in a tropical dry forest, Mexico, *The Southwestern Naturalist*, **51**(4): 462–470.
- Nadkarni NM. 1981.** Canopy roots: Convergent Evolution in rain nutrient cycles. *Science*, **214**: 1023–1024.
- Ortega-Solís G, Díaz I, Mellado-Mansilla D, Tello F, Moreno R, Tejo C. 2017.** Ecosystem engineering by *Fascicularia bicolor* in the canopy of the South-American temperate rainforest. *Forest Ecology and Management*, **400**: 417–428.
- Pedrero-López LV, Pérez-García B, Mehltreter K, Sánchez-Coronado ME, Orozco-Segovia A. 2019.** Can fern spores develop hydration memory in response to priming?, *Journal of plant physiology*, **232**: 284–29.
- Pérez-García B, Mendoza-Ruiz A, Riba R, Ricci M. 1996.** Morfogénesis del gametofito del helecho *Thyrsopteris elegans* (Filicales: Thyrsopteridaceae), *Revista Biología Tropical*, **44**(3): 59–65.
- Pérez-García B, Mendoza-Ruiz A, Sánchez-Coronado ME, Orozco-Segovia A. 2007.** Effect of light and temperature on germination of spores of four tropical fern species, *Acta Oecologica*, **32** (2): 172–179.
- Stanton DE, Huallpa-Chavez J, Villegas L, et al., 2014.** Epiphytes improve host plant water use by microenvironmental modification. *Functional Ecology*, **28**: 1274–1283.
- Stuntz S, Simon U, Zotz G. 2002.** Rainforest air-conditioning: the moderating influence of epiphytes on the microclimate in tropical tree crowns. *International Journal of Biometeorology* **46**: 53–59.

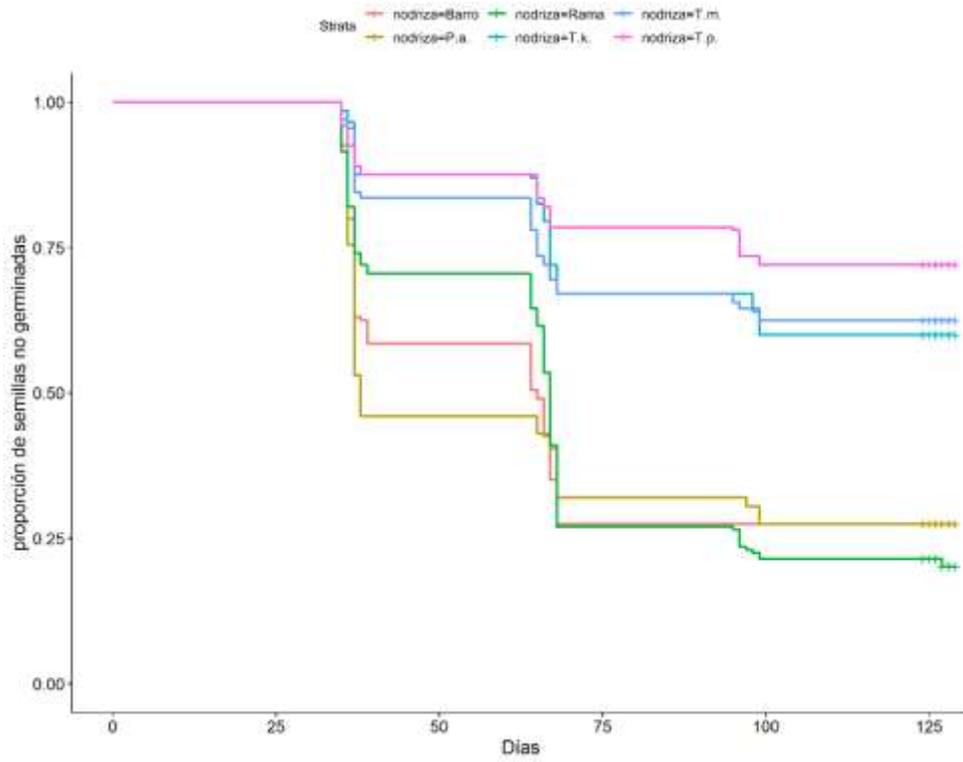
- R Core Team 2019.** R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Tejo-Haristoy C, Zabowski D, Nadkarni N. 2014.** Canopy soils of Sitka spruce and bigleaf maple in the Queets River Watershed, Washington. *Soil Science Society American Journal*, **78**: S118–S124.
- Toledo-Aceves T, Wolf JHD. 2008.** Germination and establishment of *Tillandsia eizii* (Bromeliaceae) in the canopy of an oak forest in Chiapas, México. *Biotropica*, **40**: 246–250.
- Toledo-Aceves T, García-Franco JG, Landero-Lozada S, Leon-Mateos ML, MacMillan K. 2012.** Germination and seedling survivorship of three *Tillandsia* species in the cloud-forest canopy. *Journal of Tropical Ecology*, **28**: 423–426.
- Turk MA, Shatnawi Mk, Tawaha AM. 2003.** Inhibitory effects of aqueous extracts of black mustard on germination and growth of alfalfa. *Weed Biology and Management*, **3**: 37–40.
- Valencia-Díaz S, Flores-Palacios A, Rodríguez-López V, Jiménez-Aparicio AR. 2012.** Effects of *Tillandsia recurvata* extracts on the seed germination of *Tillandsia* spp. *Allelopathy Journal*, **29**: 125–135.
- Vergara-Torres CA, Pacheco-Álvarez MC, Flores-Palacios A. 2010.** Host preference and host limitation of vascular epiphytes in a tropical dry forest of central Mexico. *Journal of Tropical Ecology*, **26**(6): 563–570.
- Veneklass E, Zagt R, Leerdam AV, Ek R, Broekhoven G, Vaan Genderen M. 1990.** Hydrological properties of the epiphyte mass of a montane tropical rain forest, Colombia. *Vegetatio*, **89**: 183–192.

- Victoriano-Romero E, 2013.** Efecto de los árboles hospederos en la germinación, supervivencia y crecimiento temprano de las plantas epífitas del bosque tropical caducifolio de San Andrés de la Cal, Tepoztlán, Morelos. Tesis de Maestría, Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos, México.
- Victoriano-Romero E, Valencia-Díaz S, Toledo-Hernández VH, Flores-Palacios A. 2017.** Dispersal limitation of *Tillandsia* species correlates with rain and host structure in a central Mexican tropical dry forest. PLoS ONE **12**(2): e0171614
- Victoriano-Romero E, García-Franco JG, Mehltreter K, Valencia-Díaz S, Toledo-Hernández VH, Flores-Palacios A. 2020.** Epiphyte associations and canopy soil volume: nutrient capital and factors influencing soil retention in the canopy. Plant Biology **XX**: XXX-XXX.
- Wagner K, Mendieta-Leiva G, Zotz G, 2015.** Host specificity in vascular epiphytes. A review of methodology, empirical evidence and potential mechanisms. *AoB PLANTS*, doi: 10.1093 / aobpla / plu092.
- Wickham H. 2016.** ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag New York.
- Winkler, M., K.Hülber, and P.Hietz. 2005.** Effect of canopy position on germination and seedling survival of epiphytic bromeliads in a Mexican humid montane forest. *Annals of Botany*, **95**: 1039–1047.
- Winkler M, Hülber K, Hietz P. 2015.** Effect of canopy on germination and seedling survival of epiphytic bromeliads in a Mexican humid montane forest. *Annals of Botany*, **95**: 1039–47.
- Zotz, G. 2016.** Plants on Plants. Switzerland: Springer.

## Figuras



**Figura 1.** Proporción de semillas no germinadas de *Tillandsia punctulata*, entre soportes de barro y caja Petri (A), y entre el tratamiento con y sin malla (B).



**Figura 2.** Proporción de semillas no germinadas de *Tillandsia multicaulis* en los tratamientos de nodriza.

## Cuadros

**Cuadro 1.** Porcentaje de germinación de esporas de *Phlebodium areolatum* y semillas de *Tillandsia kirchhoffiana*, *T. multicaulis* y *T. punctulata* sujetas a diferentes tratamientos de germinación *in vitro* y bajo seis tratamientos de nodrizas *in situ*, en un bosque mesófilo de montaña. Las esporas de *P. areolatum*, además fueron sembradas desde lotes experimentales en seco (Seco) o suspendidas en agua destilada (Suspensión). Para las especies de *Tillandsia*, letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos *in vitro* o los tratamientos *in situ* (contrastes pareados,  $P < 0.05$ ). Para *P. areolatum*, letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos *in vitro* o los tratamientos *in situ* y el tipo de lote. ns = Sin diferencias significativas.

Tratamiento	<i>Phlebodium areolatum</i>		Especie de <i>Tillandsia</i>		
	Suspensión	Seco	<i>T. kirchhoffiana</i>	<i>T. multicaulis</i>	<i>T. punctulata</i>
<i>In vitro</i>					
Barro con malla	49.1 <sup>c</sup>	30.5 <sup>d</sup>	94.5 <sup>ns</sup>	90.0 <sup>ns</sup>	97.0 <sup>a</sup>
Barro sin malla	--	--	97.0	--	65.3 <sup>c</sup>
Caja Petri con malla	53.9 <sup>bc</sup>	63.9 <sup>a</sup>	97.0	89.0	95.0 <sup>b</sup>
Caja Petri sin malla	57.5 <sup>bc</sup>	61.0 <sup>ab</sup>	98.0	89.5	93.5 <sup>b</sup>
Promedio <i>in vitro</i>	53.5	51.8	96.5	89.5	87.7
<i>In situ</i>					
Barro	21.0 <sup>cd</sup>	19.4 <sup>e</sup>	56.0 <sup>a</sup>	72.5 <sup>a</sup>	60.0 <sup>a</sup>
Rama	22.5 <sup>bc</sup>	15.9 <sup>d</sup>	61.5 <sup>a</sup>	79.0 <sup>a</sup>	57.0 <sup>ab</sup>
<i>P. areolatum</i>	42.8 <sup>a</sup>	31.0 <sup>b</sup>	27.0 <sup>b</sup>	72.5 <sup>a</sup>	32.0 <sup>b</sup>
<i>T. kirchhoffiana</i>	35.1 <sup>ab</sup>	23.5 <sup>c</sup>	11.0 <sup>bc</sup>	40.0 <sup>b</sup>	4.5 <sup>c</sup>
<i>T. multicaulis</i>	29.8 <sup>b</sup>	23.8 <sup>bc</sup>	14.0 <sup>bc</sup>	37.5 <sup>b</sup>	7.0 <sup>c</sup>
<i>T. punctulata</i>	32.5 <sup>b</sup>	25.1 <sup>bc</sup>	7.0 <sup>c</sup>	28.0 <sup>b</sup>	2.5 <sup>c</sup>

**Cuadro 2.** Número de lotes de esporas/semillas de *P. areolatum*, *Tillandsia kirchhoffiana*, *T. multicaulis* y *T. punctulata* expuestos en seis tratamientos de nodrizaje, con al menos un evento de germinación.

Nodrizo	Número de lotes con presencia de germinación	
	SI	NO
A) Esporas de <i>Phlebodium areolatum</i>		
Barro	10	0
Rama	10	0
<i>Phlebodium areolatum</i>	10	0
<i>Tillandsia kirchhoffiana</i>	10	0
<i>T. multicaulis</i>	10	0
<i>T. punctulata</i>	10	0
B) Semillas de <i>T. kirchhoffiana</i>		
Barro	10	0
Rama	10	0
<i>Phlebodium areolatum</i>	10	0
<i>Tillandsia kirchhoffiana</i>	7	3
<i>T. multicaulis</i>	4	6
<i>T. punctulata</i>	3	7
C) Semillas de <i>T. multicaulis</i>		
Barro	10	0
Rama	10	0
<i>Phlebodium areolatum</i>	10	0
<i>Tillandsia kirchhoffiana</i>	10	0
<i>T. multicaulis</i>	10	0
<i>T. punctulata</i>	9	1
D) Semillas de <i>T. punctulata</i>		
Barro	10	0
Rama	10	0
<i>Phlebodium areolatum</i>	10	0
<i>Tillandsia kirchhoffiana</i>	4	6
<i>T. multicaulis</i>	7	3
<i>T. punctulata</i>	3	7

**Cuadro 3.** Resultados del modelo lineal generalizado binomial para probar el efecto del tipo de nodriza, tipo de lote de semillas (en peso seco o en suspensión en agua), la altura en el árbol y las interacciones de estos factores en la germinación de esporas de *Phlebodium areolatum*.

Fuente de variación	g.l.	$\chi^2$	P
Tipo de nodriza	5	520.66	2.7686E-110
Tipo de lote	1	199.15	3.20127E-45
Altura	1	111.09	5.65445E-26
Nodriza $\times$ Tipo de lote	5	26.162	8.30063E-05
Nodriza $\times$ Altura	5	87.642	2.10111E-17
Tipo de lote $\times$ Altura	1	41.623	1.10683E-10
Nodriza $\times$ Tipo de lote $\times$ Altura	5	23.963	0.000220696

**Cuadro 4.** Resultados de los análisis de supervivencia proporcional de Cox (*Tillandsia multicaulis*) o modelos lineales generalizados binomiales (*T. kirchoffiana*, *T. punctulata*), para probar el efecto del tipo de nodriza, la altura en el árbol y la interacción tipo de nodriza × altura en la germinación de semillas de tres especies de *Tillandsia*. \* = P < 0.01, \*\* = P < 0.001, \*\*\* = P < 0.0001

Fuente de variación	g.l.	<i>T. multicaulis</i>	<i>T. kirchoffiana</i>	<i>T. punctulata</i>
		$\chi^2$	$\chi^2$	$\chi^2$
Tipo de nodriza	5	215.83***	277.71***	388.88***
Altura	1	8.9765*	9.1477**	25.923***
Nodriza × Altura	5	17.151*	21.276**	33.495***

**Cuadro 5.** Coeficientes del efecto de la altura en seis tratamientos de nodriza sobre la germinación de semillas de *Tillandsia kirchoffiana*, *T. multicaulis* y *T. punctulata*. Los coeficientes proviene de análisis de supervivencia proporcional de Cox (*T. multicaulis*) o modelos lineales generalizados binomiales (*T. kirchoffiana*, *T. punctulata*). Letras diferentes indican diferencias significativas entre el efecto de la altura en la germinación de cada especie de *Tillandsia* en cada tipo de nodriza (método de contrastes, P < 0.05). En *T. multicaulis* no fue posible aislar los coeficientes que diferían entre sí.

Nodriza	<i>T. kirchoffiana</i>	<i>T. multicaulis</i>	<i>T. punctulata</i>
Barro	-0.03212 <sup>bc</sup>	-0.032214	-0.022658 <sup>b</sup>
Rama	-0.05964 <sup>ab</sup>	-0.004853	-0.302136 <sup>a</sup>
<i>Phlebodium areolatum</i>	0.04335 <sup>c</sup>	-0.068116	-0.027687 <sup>b</sup>
<i>T. kirchoffiana</i>	-0.23373 <sup>ab</sup>	-0.217194	-0.457129 <sup>ab</sup>
<i>T. multicaulis</i>	-0.3036 <sup>a</sup>	-0.229051	0.129641 <sup>b</sup>
<i>T. punctulata</i>	-0.39358 <sup>a</sup>	-0.064428	-0.076603 <sup>ab</sup>

## **Material suplementario**

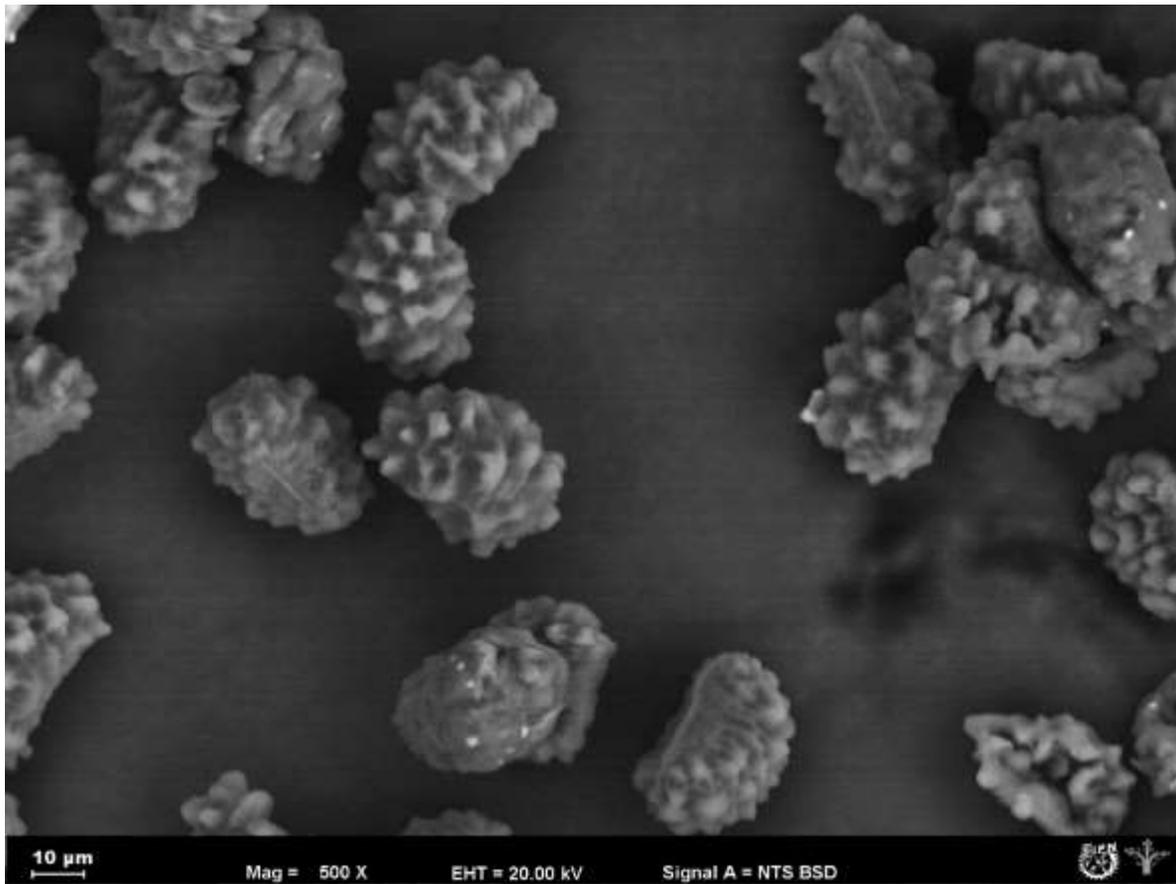
**¿Las especies epífitas asisten la germinación entre ellas? Un experimento en un bosque mesófilo de montaña del sureste de México**

## Figuras

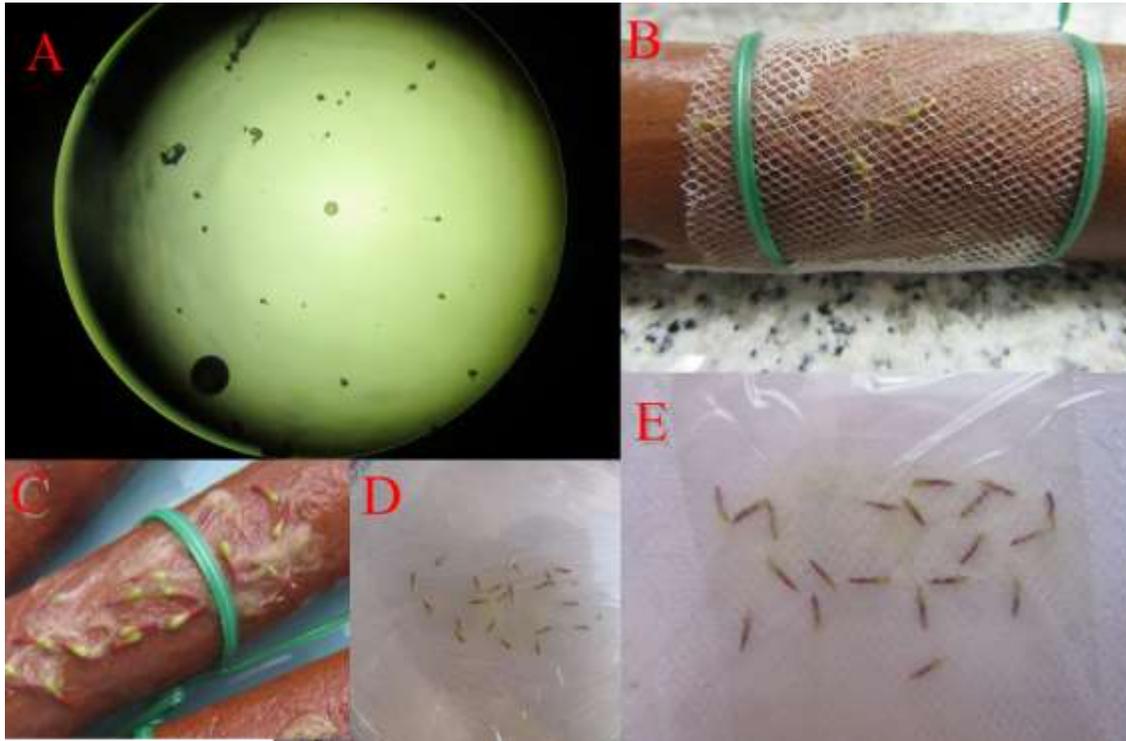
**Figura S1.** Lotes experimentales de semillas de *T. multicaulis* y esporas de *Phlebodium areolatum* en tubos de barro (A) y en rama (B). Tanto los lotes de esporas provenientes de peso seco, cómo los de suspensión en agua (alambre verde) de *P. areolatum* están sostenidos con clips.



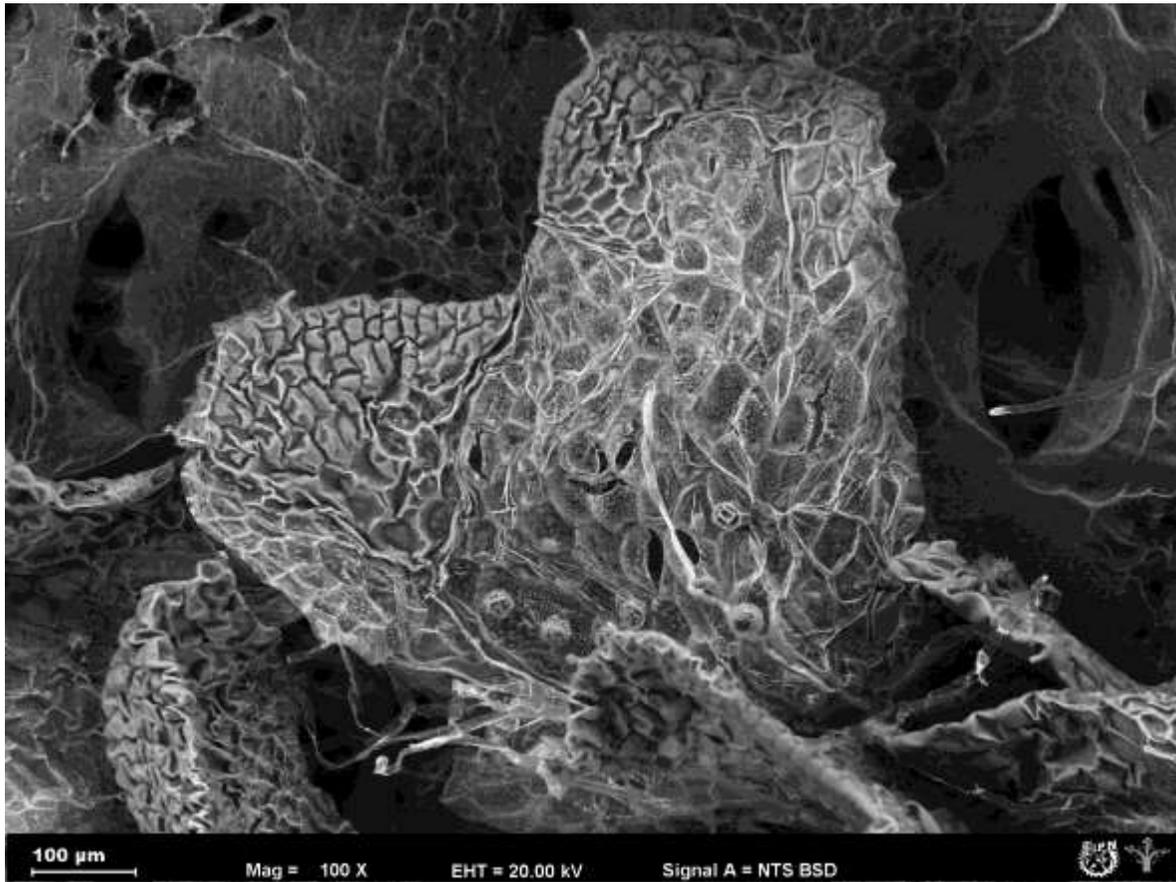
**Figura S2.** Esporas de *Phlebodium areolatum*



**Figura S3.** Germinación de A) espora de *Phlebodium areolatum* en un campo óptico (4x), B) semillas de *Tillandsia multicaulis* en malla en barro, C) semillas de *Tillandsia kirchhoffiana* sobre barro, D) semillas de *Tillandsia punctulata* en caja Petri y E) semillas de *Tillandsia kirchhoffiana* en malla en caja Petri.



**Figura S4.** Gametofito de *Phlebodium areolatum* en el tratamiento caja Petri sin malla, proveniente de esporas en solución de agua destilada a los 77 días de sembrado *in vitro*.



## Cuadros

**Cuadro S1.** Promedio  $\pm$  desviación estándar de la altura de las nodrizas utilizadas *in situ* para el experimento de germinación.

Tratamiento	Altura	Altura mínima	Altura máxima	N
<i>T. kirchhoffiana</i>	8.96 $\pm$ 3.06	5.2	13.7	60
<i>T. multicaulis</i>	8.77 $\pm$ 2.31	5.0	14.3	60
<i>T. punctulata</i>	9.39 $\pm$ 2.01	6.3	12.8	60
<i>P. areolatum</i>	8.42 $\pm$ 2.98	5.0	15.4	60
Barro	9.73 $\pm$ 3.45	5.2	15.4	60
Rama	10.02 $\pm$ 3.7	5.0	15.6	60

**Cuadro S2.** Datos de temperatura e intensidad de luz monitoreada durante el experimento de germinación en campo. Se muestra los valores promedios  $\pm$  DE de temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) e intensidad de luz ( $\text{lum}/\text{ft}^2$ ).

Mes	Horario	Temperatura	Intensidad de luz
	Diurno 7am-6:59 pm		
	Nocturno 7pm-6:59 am		
Septiembre	Diurno	18.93 $\pm$ 2.82	3800.42 $\pm$ 4695.95
2018	Nocturno	16.1 $\pm$ 1.39	43.32 $\pm$ 269.9
Octubre	Diurno	18.09 $\pm$ 2.51	2994.13 $\pm$ 3951.99
2018	Nocturno	15.87 $\pm$ 1.39	26.63 $\pm$ 177.2
Noviembre	Diurno	16.55 $\pm$ 4.2	3074.96 $\pm$ 7574.8
2018	Nocturno	13.83 $\pm$ 2.85	0 $\pm$ 0
Diciembre	Diurno	15.78 $\pm$ 4.56	3551 $\pm$ 9702.19
2018	Nocturno	12.55 $\pm$ 3.02	0 $\pm$ 0
Enero	Diurno	14.53 $\pm$ 3.76	3595.41 $\pm$ 10056.67
2019	Nocturno	11.67 $\pm$ 2.09	0.25 $\pm$ 5.26
Febrero	Diurno	19.54 $\pm$ 4.45	4015.09 $\pm$ 4408.46
2019	Nocturno	14.68 $\pm$ 2.86	80.97 $\pm$ 412.51
Marzo	Diurno	18.27 $\pm$ 4.52	3655.05 $\pm$ 5175.2
2019	Nocturno	13.78 $\pm$ 2.3	113.17 $\pm$ 520.73
Abril	Diurno	20.79 $\pm$ 4.34	4724.16 $\pm$ 5665.43
2019	Nocturno	15.37 $\pm$ 2.58	45.8 $\pm$ 250.8
Mayo	Diurno	22.71 $\pm$ 3.39	4862.82 $\pm$ 6690.77
2019	Nocturno	18.1 $\pm$ 1.84	12.83 $\pm$ 68.03
Junio	Diurno	20.87 $\pm$ 2.98	3284.73 $\pm$ 3186.55
2019	Nocturno	16.97 $\pm$ 1.7	12.46 $\pm$ 74.81
Julio	Diurno	20.18 $\pm$ 2.91	4085.58 $\pm$ 5766.83
2019	Nocturno	15.36 $\pm$ 1.32	11.89 $\pm$ 59.24
Agosto	Diurno	20.18 $\pm$ 2.98	3607.71 $\pm$ 3734.42
2019	Nocturno	15.77 $\pm$ 1.34	18.97 $\pm$ 106.61

**Cuadro S3.** Soluciones Stock e ingredientes para el medio de cultivo Thompson (Klekowski 1969).

<b>Código</b>	<b>Soluciones stock (Thompson)</b>	<b>Concentraciones</b>
<b>Nutrientes</b>		
<u>Macroelementos</u>		<b>(g/100 ml)</b>
A	Nitrato de Amonio (NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> )	2.5
B	Fosfato de Potasio (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	2.0
C	Sulfato de Magnesio (MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O)	1.0
D	Cloruro de Calcio (CaCl <sub>2</sub> )	1.0
<u>Microelementos</u>		<b>(g/l)</b>
1t	Sulfato de Maganeso	0.022
	Sulfato de Cobre	0.024
	Sulfato de Zinc	0.029
	Ácido Bórico	0.186
	Molibdato de Amonio	0.0035
1lt	Sulfato de Hierro	2.5
	Solución EDTA	3.7

### **Ingredientes del medio de cultivo**

1.-1 litro de agua destilada

2.- Agar Micropropagación tipo 1 (8g/l)

3.- Solución Stock (Macroelementos)

A 5 ml

B 25 ml

C 12 ml

D 2 ml

4.- Solución Stock (Microelementos)

1t 10 ml

1lt 10 ml

## CAPÍTULO 5

### Discusión general

Las interacciones entre plantas epífitas influyen en su establecimiento y en el mantenimiento en sus comunidades (Callaway 1995). La información existente en el dosel se ha basado principalmente en observaciones que sugieren patrones e hipótesis de cómo se originan las carpetas de epífitas y el suelo suspendido (Coxson & Nadkarni 1995; Gotsch *et al.* 2016). Conocer la asociación entre epífitas y qué tipo de interacciones están ocurriendo entre estas, así como la contribución de especies clave en nutrientes y retención de suelo son necesarios para entender mejor su funcionamiento en el ecosistema y preservar a las especies de epífitas del bosque mesófilo de montaña, un ecosistema altamente fragmentado (Gotsch *et al.* 2016; Toledo-Aceves *et al.* 2011; Toledo-Aceves *et al.* 2014). Nuestro trabajo correlacional y experimentalmente mostró a *P. areolatum* como una especie clave (helecho humus) en la retención de suelo suspendido y cómo las especies frecuentes de los suelos suspendidos contribuyen positiva/negativamente en etapas tempranas de establecimiento y mantenimiento en las carpetas de epífitas.

Las epífitas habitan el dosel en parches discontinuos, con el tiempo se incrementa la abundancia y diversidad de epífitas y de forma emergente pueden retener grandes cantidades de suelo suspendido (Gotsch *et al.* 2016). La aparición y establecimiento de las especies de epífitas en el dosel, ha sido explicado por factores como la posición sobre las ramas, características (físicas y químicas) de los árboles hospederos e incluso la propia diseminación de las plantas y la influencia del viento (Dudgeon 1923; Woods *et al.* 2015; Woods 2017). Además se ha sugerido que las plantas no vasculares son quienes inician el proceso de sucesión en el dosel (Dudgeon 1923). No obstante, plantas vasculares han sido reportadas de manera solitaria y posteriormente pueden agruparse o reemplazarse con otras especies

(Yeaton & Gladstone 1982; Catling & Lefkovitch 1989; Brown 1990; Woods *et al.* 2015), lo que sugiere que las etapas iniciales de sucesión no necesariamente son por plantas no vasculares, ni por acumulación pasiva en el tiempo. Nuestros resultados apoyan que las especies de epífitas vasculares pueden iniciar la sucesión y considerarse como especies pioneras, al formar carpetas de epífitas monoespecíficas (59% de una sola especie) e incluso cuatro especies de epífitas pueden encontrarse inicialmente de manera solitaria y después agruparse con hasta con seis especies (27%) y ser las más frecuentes en las carpetas con presencia de suelos suspendidos. Identificar a grupos clave de especies pioneras, de sucesión tardía, generalistas y especies asociadas a los suelos suspendidos en las carpetas de epífitas nos ayuda a entender los mecanismos de creación de las comunidades de epífitas. Dado la función de los suelo suspendido en los ecosistemas es importante identificar a las especies epífitas que contribuyan de manera significativa en la creación de comunidades es decir, las epífitas pueden funcionar como ingenieros del ecosistema al facilitar las condiciones para el establecimiento de las comunidades de epífitas (Ortega-Solís *et al.* 2017). De tal manera que las cuatro especies de epífitas frecuentes de suelos suspendidos identificadas en este estudio nos sugiere un papel importante dentro de las carpetas de epífitas.

La acumulación de materia orgánica en “suelos suspendidos” ha sido explicada como producto de la sucesión de epífitas e incluso relacionado con las ramas intermedias de la copa de los árboles (Coxson & Nadkarni 1995; Flores-Palacios & García-Franco 2004; Woods *et al.* 2015; Gotsch *et al.* 2016). Pero la corteza desnuda tiene poca capacidad de retener materia orgánica y la colonización de especies epífitas es lenta (Nadkarni 2000), mientras que la presencia de especies vasculares puede acelerar este proceso (Ortega-Solís *et al.* 2017). Estudios previos han sugerido el término “epífitas humus” para referirse a las especies que se relacionan con los suelos suspendido (Dressler 1981, Benzing 1990; Woods *et al.* 2015).

Los helechos son las especies que mayor biomasa viva tienen dentro de los suelos suspendidos, sugiriéndolos como retenedores de la materia orgánica muerta (Sillet & Bailey 2003; Enloe *et al.* 2003; Flores-Palacios & García-Franco 2004). Sin embargo, estas sugerencias están basadas en observaciones o métodos destructivos. Nosotros empleamos, primeramente, un método de estimación del volumen del suelo suspendido y pudimos determinar que la cobertura de *Phlebodium areolatum* incrementa el volumen del suelo suspendido, el sistema de raíces de este helecho hace que se extienda el área del suelo suspendido más allá de la rama. Experimentalmente, *P. areolatum* retiene mayor cantidad de suelo suspendido en peso seco (4.4 veces más en un lapso de dos años), demostrando que esta especie es clave en la retención de los suelos suspendidos. La facilitación entre especies de una comunidad puede determinar directa o indirectamente su estructura y el desempeño del resto de las especies que co-existan, ya que explotan recursos similares (Callaway 2007). Las condiciones favorables que los suelos suspendidos proveen al resto de las especies en el ecosistema y el encontrar una flora epífita asociada a estos histosoles, nos sugiere que además de la facilitación en la retención de suelo suspendido, existen interacciones bióticas entre las epífitas que determinan su mantenimiento en la comunidad.

Las interacciones bióticas determinan la co-existencia de las especies en el dosel, así que efectos positivos o negativos entre ellas pueden delimitar su establecimiento y mantenimiento en el dosel (Chaves & Rossatto 2020). Estudios de interacciones epífita-epífita han sugiriendo patrones de competencia y facilitación entre las especies que co-existen en los árboles (Valencia-Díaz *et al.* 2012; Jian *et al.* 2013; Chaves & Rossatto 2020). Pero hasta esta tesis, no había un estudio donde se abordara simultáneamente tanto la etapa de establecimiento cómo de mantenimiento en el dosel de las especies de las carpetas de epífitas. Nosotros encontramos efectos tanto positivos como negativos entre las especies de

epífitas frecuentes de suelos suspendidos, incluso ambos efectos pueden presentarse en una misma especie. Por ejemplo, *P. areolatum* facilita la retención de suelo suspendido del cual se favorecen otras epífitas, facilita la germinación de esporas de su misma especie y de semillas de especies de *Tillandsia*, pero su supervivencia y crecimiento es fuertemente disminuido por las *Tillandsia*. Un patrón similar ocurrió con *T. kirchhoffiana* quien facilita la supervivencia de *P. areolatum* y afecta poco el crecimiento de otras especies (e.g. *T. multicaulis*) pero si fue afectada negativamente en su germinación, supervivencia y crecimiento por las especies congéneres. Contrariamente, *T. multicaulis* y *T. punctulata* son buenas competidoras ya que tienen efectos negativos en la germinación, supervivencia y crecimiento de las otras especies de epífitas. Este patrón de competencia se ha reportado en las especies de *Tillandsia* (Valencia-Díaz *et al.* 2012; Chaves & Rossatto 2020), pero en especies lejanas pueda existir algún tipo de facilitación (nodriza) (Hietz & Hietz-Seifer 1995). En este trabajo encontramos a *P. areolatum* como facilitador clave de la comunidad de carpetas epífitas con suelo suspendido y a las especies de *Tillandsia* con efectos más negativos (competencia) que positivos (facilitación). Interacciones unilaterales y con diversos efectos hacen de una comunidad estable y apoya el modelo de sucesión de las comunidades vegetales (Clements 1916; Mougi 2016). Así que estudios en las carpetas de epífitas son indispensables para entender mejor la dinámica de este tipo de comunidades en el dosel.

Las carpetas de epífitas han destacado por ser reservorios de recursos en los ecosistemas (Coxson & Nadkarni 1995; Cardelús *et al.* 2009; Gotsch *et al.* 2016). Estudios del capital de nutrientes de plantas epífitas en suelos suspendidos han mostrado mayor cantidad de nutrientes que especies aisladas (e.g. Bromeliaceae) (Cardelús *et al.* 2009; Flores-Palacios *et al.* 2004; Flores-Palacios *et al.* 2014). Nosotros encontramos que la especie clave

de los suelos suspendidos tiene mayor contenido de nutrientes que las especies de *Tillandsia*, pero una vez que todas las especies de epífitas se encuentran en interacción reteniendo suelo suspendido no existe ningún patrón respecto a la asociación de epífitas. Sin embargo, cuando el suelo suspendido está en interacción experimental con ninguna especie de epífita (se acumuló pasivamente) mostró mayor contenido de nutrientes. Lo que sugiere que las especies de epífitas están aprovechando el recurso más que aportando, además la mayor cantidad de materia orgánica retenida en los suelos proviene del árbol que de las propias epífitas. No obstante, son necesarios estudios de mayor periodo de tiempo y que demuestren el patrón de la transferencia de nutrientes entre las epífitas para inferir sobre la dinámica de nutrientes de las carpetas de epífitas con suelo suspendido, ya que son una fuente de recurso importante y vulnerable en el ecosistema.

### **Conclusiones generales**

En un bosque mesófilo de montaña del centro de México, en Veracruz hemos determinado por primera vez la flora epífita en estados sucesionales, la especie clave de la retención de suelos suspendido, los efectos mutuos entre las epífitas en carpetas experimentales (crecimiento y supervivencia) así como el efecto de nodriza en la germinación *in situ* de las especies de epífitas frecuentes de los suelos suspendidos. Apoyando las observaciones y correlaciones de las especies humus con capacidad de retención de suelo suspendido (Sillet & Bailey 2003; Enloe *et al.* 2003; Flores-Palacios & García-Franco 2004). Sin embargo, no encontramos patrones claros en la aportación de nutrientes a los suelos suspendidos pero pudimos observar el aprovechamiento de los mismos por las epífitas. Lo que soporta la idea de que las carpetas de epífitas con suelos suspendidos tienen un rol funcional importante dentro de los ecosistemas (Coxson & Nadkarni 1995; Gotsch *et al.* 2016). Particularmente

los bosques mesófilos de montaña quienes tienen la mayor biomasa de suelos suspendidos y son altamente vulnerables (Toledo-Aceves *et al.* 2011; Gotsch *et al.* 2016; Toledo-Aceves *et al.* 2014).

## **Bibliografía**

- Benzing DH. 1990.** Vascular epiphytes. Cambridge University Press. Cambridge.
- Brown AD. 1990.** El epífitismo en las selvas montañas del Parque Nacional “El Rey”, Argentina: composición florística y patrón de distribución. *Revista de Biología Tropical*, **38**: 155–166.
- Callaway RM. 1995.** Positive interactions among plants. *Botanical Review*, **61**: 306–349.
- Callaway RM, Howard TG. 2007.** Competitive Networks, Indirect Interactions, and Allelopathy: A Microbial Viewpoint on Plant Communities. In: Esser K., Löttge U., Beyschlag W., Murata J. (eds) *Progress in Botany*. *Progress in Botany*, **68**. Springer, Berlin, Heidelberg
- Cardelús CL, MacK MC, Woods C, Demarco J, Treseder KK. 2009.** The influence of tree species on canopy soil nutrient status in a tropical lowland wet forest in Costa Rica. *Plant and Soil*, **318**: 47–61.
- Catling PM, Lefkovitch LP. 1989.** Associations of vascular epiphytes in a Guatemalan cloud forest. *Biotropica*, **21**: 35–40.
- Chaves CJN, Rossatto DR. 2020.** Unraveling intricate interactions among atmospheric bromeliads with highly overlapping niches in seasonal systems. *Plant Biology*
- Clements FE. 1916.** *Plant succession: An analysis of the development of vegetation*. Carnegie Institution of Washington, Washington, DC.
- Coxson DS, Nadkarni NM. 1995.** Ecological roles of epiphytes in nutrient cycles of forest ecosystems. In: Lowman M. D., Nadkarni N.M. (eds) *Forest canopies*: 495-543. San Diego, Academic Press.

- Dudgeon W. 1923.** Succession of epiphytes in the *Quercus incana* forest at Landour, Western Himalayas. Preliminary notes. The Journal of the Indian Botanical Society, **3**: 270–272.
- Dressler RL. 1981.** The orchids natural history and classification. Harvard University Press Cambridge.
- Enloe HA, Graham RC, Sillett SC. 2006.** Arboreal histosols in old-growth redwood forest canopies, Northern California. Soil Science Society of America Journal, **70**: 408–418.
- Flores-Palacios A, García-Franco JG. 2004.** Effect of isolation on the structure and nutrient Budget of oak epiphyte communities. Plant Ecology, **173**: 259–269.
- Flores-Palacios A, Barbosa-Duchateau CL, Valencia-Díaz S, Capistrán-Barradas A, García-Franco JG. 2014.** Direct and indirect effects of *Tillandsia recurvata* on *Prosopis laevigata* in the Chihuahua desert scrubland of San Luis Potosi, Mexico. Journal of Arid Environments, **104**: 88–95.
- Gotsch SG, Nadkarni NM, Amici AA. 2016.** The functional roles of epiphytes and arboreal soils in tropical montane cloud forest. Journal of Tropical Ecology, **32**: 455–468.
- Hietz P, Hietz-Seifert U. 1995.** Intra- and interspecific relations within an epiphyte community in a Mexican humid montane forest. Selbyana, **16** (2):135–140.
- Jian PY, Hu FS, Wang CP, Chiang JM, Lin TC. 2013.** Ecological facilitation between two epiphytes through drought mitigation in a Subtropical Rainforest. PLoS ONE, **8**: e64599.
- Mougi A. 2016.** The roles of amensalistic and commensalistic interactions in large ecological network stability. Scientific report **6**: 29929; doi: 10.1338/srep29929
- Nadkarni NM. 2000.** Colonization of stripped branch surfaces by epiphytes in a lower montane cloud forest, Monteverde, Costa Rica. Biotropica, **32**: 358–363.

- Ortega-Solís G, Díaz I, Mellado-Mansilla D, Tello F, Moreno R, Tejo C. 2017.** Ecosystem engineering by *Fascicularia bicolor* in the canopy of the South American temperate rainforest. *Forest Ecology and Management*, **400**: 417–428.
- Sillett SC, Bailey MG. 2003.** Effects of tree crown structure on biomass of the epiphytic fern *Polypodium scolieri* (Polypodiaceae) in a redwood forest. *American Journal of Botany*, **90**: 255–261.
- Valencia-Díaz S, Flores-Palacios A, Rodríguez-López V, Jiménez-Aparicio AR. 2012.** Effects of *Tillandsia recurvata* extracts on the seed germination of *Tillandsia* spp. *Allelopathy Journal*, **29**: 125–135.
- Woods CL. 2017.** Primary ecological succession in vascular epiphytes: the species accumulation model. *Biotropica*, **49**: 452–460.
- Woods CL, Cardelús CL, DeWalt SJ. 2015.** Microhabitat associations of vascular epiphytes in a wet tropical forest. *Journal of Ecology*, **103**: 421–430.
- Toledo-Aceves T, Meave JA, González-Espinosa M, Ramírez-Marcial N. 2011.** Tropical montane cloud forests: Current threats and opportunities for their conservation and sustainable management in Mexico. *Journal of Environmental Management*, **92**: 974–981.
- Toledo-Aceves T, García-Franco JG, Williams-Linera G, MacMillan K, Gallardo-Hernández C. 2014.** Significance of remnant cloud forest fragments as reservoirs of tree and epiphytic bromeliad diversity. *Tropical Conservation Science*, **7**: 230–243.
- Yeaton RI, Gladstone DE. 1982.** The pattern of colonization of epiphytes on calabash trees (*Crescentia alata* HBK) in Guacaste Province, Costa Rica. *Biotropica*, **14**: 137–140.

## Votos probatorios



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS  
DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

Cuernavaca, Morelos a 7/Febrero/2020

### COMITÉ DE REVISION DE TESIS

Dr. Alejandro Flores Palacios (Tutor)  
Dr. José Guadalupe García Franco (Co Tutor)  
Dr. Klaus Volker Mehlreter  
Dr. Víctor Hugo Toledo Hernández  
Dra. Susana Valencia Díaz  
Dr. Jonás Morales Linares  
Dra. Carmen Agglael Vergara Torres

Tesis: El efecto de *Phlebodium areolatum* en la formación de suelos suspendidos y en la asociación entre epifitas"

Alumno que la presenta a revisión: **ELIZABETH VICTORIANO ROMERO**

Programa: DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

### VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es **APROBADO**

ATENTAMENTE

DR. ALEJANDRO FLORES PALACIOS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS  
DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

Cuernavaca, Morelos a \_\_\_\_\_

COMITÉ DE REVISIÓN DE TESIS

Dr. Alejandro Flores Palacios (Tutor)  
Dr. José Guadalupe García Franco (Co Tutor)  
Dr. Klaus Volker Mehlreter  
Dr. Víctor Hugo Toledo Hernández  
Dra. Susana Valencia Díaz  
Dr. Jesús Morales Linares  
Dra. Carmen Agglael Vergara Torres

Tesis: El efecto de *Phlebotium areolatum* en la formación de suelos suspendidos y en la asociación entre epífitas"

Alumno que le presenta a revisión: ELIZABETH VICTORIANO ROMERO

Programa: DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es **APROBADO**

ATENTAMENTE

DR. JOSE GUADALUPE GARCIA FRANCO



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS  
DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

Cuernavaca, Morelos a 7 de febrero del 2020

COMITÉ DE REVISION DE TESIS

Dr. Alejandro Flores Palacios (Tutor)  
Dr. José Guadalupe García Franco (Co Tutor)  
Dr. Klaus Volker Mehltreter  
Dr. Víctor Hugo Toledo Hernández  
Dra. Susana Valencia Díaz  
Dr. Jonás Morales Linares  
Dra. Carmen Agglael Vergara Torres

Tesis: El efecto de *Phlebodium arcolatum* en la formación de suelos suspendidos y en la asociación entre epífitas"

Alumno que la presenta a revisión: **ELIZABETH VICTORIANO ROMERO**

Programa: DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

**VOTO**

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es **APROBADO**

ATENTAMENTE

DR. KLAUS VOLKER MEHLTRETER



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS  
DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

Cuernavaca, Morelos a 7/febrero/2020

COMITÉ DE REVISION DE TESIS

Dr. Alejandro Flores Palacios (Tutor)  
Dr. José Guadalupe García Franco (Co Tutor)  
Dr. Klaus Volker Mehlreter  
Dr. Víctor Hugo Toledo Hernández  
Dra. Susana Valencia Díaz  
Dr. Jonás Morales Linares  
Dra. Carmen Agglael Vergara Torres

Tesis: El efecto de *Phlebodium areolatum* en la formación de suelos suspendidos y en la asociación entre epífitas"

Alumno que la presenta a revisión: **ELIZABETH VICTORIANO ROMERO**

Programa: DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

**VOTO**

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es **APROBADO**

ATENTAMENTE

DR. VICTOR HUGO TOLEDO HERNANDEZ



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS  
DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

Cuernavaca, Morelos a 6/Febrero/2020

COMITÉ DE REVISION DE TESIS

Dr. Alejandro Flores Palacios (Tutor)  
Dr. José Guadalupe García Franco (Co Tutor)  
Dr. Klaus Volker Mehlreter  
Dr. Víctor Hugo Toledo Hernández  
Dra. Susana Valencia Díaz  
Dr. Jonás Morales Linares  
Dra. Carmen Agglael Vergara Torres

Tesis: El efecto de *Phlebodium areolatum* en la formación de suelos suspendidos y en la asociación entre epifitas"

Alumno que la presenta a revisión: **ELIZABETH VICTORIANO ROMERO**

Programa: DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

**VOTO**

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es **APROBADO**

ATENTAMENTE

  
DRA. SUSANA VALENCIA DIAZ



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

Cuernavaca, Morelos a 6 de Febrero de 2020

COMITÉ DE REVISION DE TESIS

Dr. Alejandro Flores Palacios (Tutor)  
Dr. José Guadalupe García Franco (Co Tutor)  
Dr. Klaus Volker Mehlreter  
Dr. Víctor Hugo Toledo Hernández  
Dra. Susana Valencia Díaz  
Dr. Jonás Morales Linares  
Dra. Carmen Aglael Vergara Torres

Tesis: El efecto de *Phlebotium arcolatum* en la formación de suelos suspendidos y en la asociación entre epífitas"

Alumno que la presenta a revisión: ELIZABETH VICTORIANO ROMERO

Programa: DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

**VOTO**

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es **APROBADO**

ATENTAMENTE

  
DR. JONÁS MORALES LINARES



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

Cuernavaca, Morelos a 07 / Febrero / 2020

COMITÉ DE REVISION DE TESIS

Dr. Alejandro Flores Palacios (Tutor)  
Dr. José Guadalupe García Franco (Co Tutor)  
Dr. Klaus Volker Mehltreter  
Dr. Víctor Hugo Toledo Hernández  
Dra. Susana Valencia Díaz  
Dr. Jonás Morales Linares  
Dra. Carmen Agglael Vergara Torres

Tesis: El efecto de *Phlebotium areolatum* en la formación de suelos suspendidos y en la asociación entre epífitas”

Alumna que la presenta a revisión: **ELIZABETH VICTORIANO ROMERO**

Programa: DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

**VOTO**

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es **APROBADO**

ATENTAMENTE

DRA. CARMEN AGGLAEL VERGARA TORRES