



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

Análisis del crecimiento de *Dionaea muscipula* J. Ellis
(DROSERACEAE) en cultivo, bajo el efecto de
Giberelina-GA₃.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Biólogo

P R E S E N T A:

YÁÑEZ VILLANUEVA ERICK ESAÚ



DIRECTOR DE TESIS:
Dra. Elvia Lucía Pavón Meza

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México,
2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	3
RESUMEN.....	4
INTRODUCCIÓN.....	5
ANTECEDENTES.....	8
OBJETIVOS.....	9
MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	14
DISCUSIÓN.....	32
CONCLUSIONES.....	38
BIBLIOGRAFÍA.....	39

Agradecimientos

A Margarita Villanueva Molina, José Luis Yáñez Domínguez y Brenda Anaid Yáñez Villanueva, por su apoyo incondicional y sus sabios consejos, sin su ayuda este logro no hubiera sido posible.

A la familia Villanueva por el gran apoyo, los consejos y el cariño brindado, antes y durante la elaboración de esta tesis.

A la Dra. Elvia Lucía Pavón Meza por ser una gran persona, el apoyo, el conocimiento y la enorme cantidad de tiempo que destino para la culminación de esta tesis.

Al Dr. Hugo Virgilio Perales Vela por su excelente calidad humana, el gran apoyo, conocimiento, material y tiempo brindado para la culminación de esta tesis.

A los maestros Josefina Vázquez Medrano y Ismael Aguilar Ayala y a la bióloga Yolanda Pozos Ruíz por sus observaciones, consejos y ayuda brindadas para la elaboración de esta tesis.

A mis amigos Willy, Gabriel, Chucho, Miriam, José Carlos, Andrea, René, Miguel, Jaime, Ángel por el tiempo, las experiencias, los momentos de risa y el apoyo brindado durante la carrera.

A mis amigos de la secundaria Manuel, Rubén, Paco y Abdiel, por el apoyo, las experiencias, los momentos de risa y porque a pesar del tiempo seguimos manteniendo una gran amistad.

Resumen.

Dionaea muscipula, también conocida como venus atrapamoscas, es una planta carnívora de gran importancia comercial y científica, debido a sus características fisiológicas. Al igual que todas las plantas, además de agua, nutrientes, luz y dióxido de carbono, estas necesitan la acción de unas sustancias llamadas fitohormonas, entre las cuales se encuentra la giberelina, encargada de regular el crecimiento, desarrollar inflorescencias, inducir la germinación, etc., sin embargo aunque ya se han encontrado resultados positivos en la aplicación endógena de ác. giberélico sobre el crecimiento de algunas especies de interés comercial, no se tienen registros del efecto de esta fitohormona en plantas carnívoras, por lo que, para investigar el efecto de diferentes concentraciones de giberelina en *D. muscipula*, se obtuvieron plantas de dos edades diferentes (uno y dos años), a las que se les aplicaron cuatro tratamientos (0, 30, 60, 120 mg.L⁻¹ de ác. giberélico comercial) con cuatro repeticiones cada uno. Se midieron variables como morfología de las plantas (diámetro, longitud y ancho de hojas y trampas), variables de crecimiento (peso fresco, relación peso fresco/peso seco e índice de crecimiento) y actividad fotosintética mediante fluorescencia, los resultados mostraron un crecimiento diferenciado entre plantas chicas y plantas grandes, por lo que el efecto de la aplicación del ácido giberélico resultó diferente, la giberelina aumento significativamente la longitud del peciolo de las hojas y el ancho de las trampas, mientras que los valores obtenidos de peso fresco indican que tanto plantas chicas como plantas grandes tendieron a crecer significativamente, mientras que en la relación PF/PS no se encontraron diferencias significativas, finalmente la actividad fotosintética fue afectada principalmente por el número de hojas y la biomasa de *Dionaea muscipula*, que por el efecto de la giberelina.

Palabras clave: Giberelina, Plantas carnívoras, Fluorescencia, Crecimiento, *Dionaea muscipula*.

I. Introducción.

Las plantas carnívoras son organismos que se caracterizan por capturar presas, absorber metabolitos de ésta y utilizarlos en su desarrollo y crecimiento, adicionalmente de los nutrientes del suelo (Adamec, 1997). El desarrollo de adaptaciones para la carnivoría, tales como la modificación de sus hojas para atraer y atrapar insectos, ha permitido a las plantas carnívoras la obtención de nutrientes necesarios para su crecimiento, en especial el nitrógeno que es empleado en la producción de RuBP carboxilasa-oxigenasa para así incrementar las tasas de fijación de CO₂ (Ellison, 2006), ya que la mayoría de éstas plantas crecen en suelos pantanosos, en los que se hallan en condiciones desfavorables, los suelos se encuentran usualmente húmedos o inundados, ácidos en su mayoría y frecuentemente pobres de nutrientes minerales (Adamec, 2002).

Dentro de los 15 géneros de plantas carnívoras existentes (Rice, 2002), se encuentra *Dionaea*, la cual, además de crear un gran interés ornamental gracias a las adaptaciones morfológicas de sus hojas, también ha despertado el interés para ser utilizadas con fines educativos, como una alternativa importante para generar una cultura de cuidado y respeto en torno a las plantas y a otras formas de vida (Ayán Álvarez, 2016; Rozo Ávila, 2017). Por lo que, si bien, las especies que se comercializan en México son introducidas, su presencia se limita a la decoración de ambientes interiores y algunos exteriores en pequeña escala, por lo que su cultivo es de interés comercial, principalmente, alcanzando precios de hasta \$450.00 m.n., en plantas grandes.

La especie *Dionaea muscipula*, también conocida como Venus atrapamoscas (Fig. 1), es perteneciente a un género monotípico dentro de la familia Droseraceae, es endémica de la región pantanosa de la llanura costera del sureste de América del Norte y es una de las especies de mayor interés ornamental (Gi Wong *et al.*, 2003). Para su crecimiento en cultivo, se requiere un sustrato húmedo o inundado, de pH ácido y pobre de nutrientes minerales (Gibson y Waller, 2009), requiere ser regada con agua destilada y mantener una humedad mayor al 50%, la planta es de muy lento crecimiento y tarda en alcanzar la etapa adulta de cuatro a seis años, ya que tienen una baja tasa fotosintética, mucho menor a la de plantas no carnívoras (Hájek y Adamec, 2010).



Fig. 1. *Dionaea muscipula* en cultivo.

Es importante señalar que, desde el descubrimiento de la *D. muscipula*, también se ha estimulado la investigación sobre sus características fisiológicas (Roberts y Oosting, 1958), desde los mecanismos involucrados en el cierre de sus trampas (Libiakova *et al.*, 2014), hasta la utilización de extractos en el tratamiento de células cancerígenas (Pakulski y Budzianowski, 1996). Se ha encontrado que contiene naftoquinonas de gran valor farmacológico, como la plumbagina, el interés principal de los científicos en estos compuestos es su efecto citostático y su efecto anti carcinogénico (Babula *et al.*, 2006); sin embargo, éstos trabajos son relativamente recientes, por lo que falta realizar más investigaciones al respecto y de ser favorables, el requerimiento de plantas de *D. muscipula* en gran volumen se haría cada vez mayor, por lo que, mejorar las técnicas de cultivo podría permitir su explotación, sin afectar más a las poblaciones naturales, ya disminuídas de por sí (Banasiuk *et al.*, 2012).

Aún cuando desde hace unos 30 años ya se ha logrado la propagación mediante el cultivo *in vitro* de *D. muscipula* (Hutchinson, 1983; Banasiuk *et al.*, 2012) y se conoce que algunas fitohormonas (como ANA y BAP) promueven la proliferación de callo y brotes de plantas mediante ésta técnica (Beebe, 1980; Jang *et al.*, 2003), es poco lo que se sabe sobre la respuesta de las plantas en condiciones de invernadero y de los factores que favorecen su crecimiento en cultivo *ex vitro*, ya que las investigaciones se han enfocado

en conocer las variables involucradas en el movimiento de sus hojas (Markin *et al.*, 2008; Pavlovic *et al.*, 2017).

Es sabido que, además del agua, nutrientes, luz y dióxido de carbono que las plantas requieren para su crecimiento, necesitan de la acción de ciertas sustancias orgánicas llamadas fitohormonas, las cuales están vinculadas con las respuestas morfogénicas durante la ontogenia de las plantas y que funcionan de manera endógena, pero también se pueden aplicar en forma exógena (Salisbury y Ross, 1992).

Dentro de las fitohormonas, las giberelinas son reguladoras del crecimiento y de una amplia variedad de procesos del crecimiento de las plantas, tales como el desarrollo de inflorescencias, inducen la germinación de semillas, promueven el desarrollo de muchos frutos y la partenocarpia (Richards *et al.*, 2001); su síntesis se ha detectado en hojas y yemas de crecimiento, en donde causan un incremento en la tasa de división celular, lo cual provoca el aumento en la elongación de los brotes; también estimula la germinación de algunas semillas y promueve la floración en algunas plantas, particularmente en las de día largo (Escudero Melo, 2016); las giberelinas se originan de una rama de la vía de los diterpenos, la formación de la giberelina es iniciada por la ciclación del geranilgeranildifosfato en el plástido, posteriormente el GA₁₂-aldehído es formado por la acción del citocromo P450-dependiente mono-oxigenasa en el exterior del retículo endoplásmico. GA₁₂-aldehído es la primera giberelina producida y es el precursor de las otras GA restantes, estas son formadas en el citosol, en una compleja red metabólica, esta fase final de la vía es catalizada por la 2-oxoglutarato – dependiente de dioxigenasas, este grupo comprende enzimas involucradas en la formación de la bioactiva GA₁ y/o GA₄ como la enzima GA₂₀-oxidasa y GA₃-oxidasa o involucradas en su desactivación como la GA₂-oxidasa (Biemelt *et al.*, 2004); sin embargo, aunque ya se han encontrado resultados positivos en el crecimiento de algunas especies de interés comercial, como el pimiento morrón (Mendoza *et al.*, 2009), el jitomate (Ortega-Martínez *et al.*, 2013) o el fruto de la granada (Escudero Melo, 2016), no se tienen registros del efecto de ésta fitohormona en especies de plantas carnívoras.

II. Antecedentes.

Desde las primeras investigaciones en plantas carnívoras, hechas por Darwin hace más de un siglo, se resalta la importancia de conocer las adaptaciones que permiten a éstas plantas, obtener hasta un 30% de sus requerimientos, a partir de la captura de sus presas (Ellison y Gotelli, 2009).

Por su parte, Gibson y Waller (2009) describen la importancia de conocer los aspectos evolutivos, morfológicos y funcionales de las plantas carnívoras, lo cual hace que algunas especies sean vulnerables a la agricultura extensiva, a los cambios ambientales y a la sobreexplotación, como el caso de *D. muscipula*. (Schulze *et al.*, 2001).

En 1996, Pakulski y Budzianowski describen la presencia de once diversas sustancias de valor comercial, en plantas de *D. muscipula* cultivadas *in vitro*, entre las que se encuentran la Plumbagina y las Naftoquinonas, ya conocidas por su citotoxicidad

Banasiuk *et al.*, 2012, hace un análisis de las técnicas conocidas de propagación *in vitro*, para diferentes plantas carnívoras y menciona que ésta forma de cultivo puede permitir su explotación sustentable y disminuir la afectación a las poblaciones naturales.

Desde que Hutchinson en 1983 realizó un estudio de propagación *in vitro* de *Dionaea muscipula*, donde encontró que la proliferación de brotes fue muy influenciada por la cinetina, un tipo de citocinina, más que BAP (6-bencilaminopurina), se determinó que la concentración óptima de cinetina fue de 10 μM , mientras que para BAP el número de brotes aumentó al aumentar la concentración hasta 15 μM , los cultivos que usaron BAP como fuente de citocinina produjeron plántulas con hojas poco desarrolladas y trampas distorsionadas, se han realizado diversos estudios para obtener mejores resultados, como el de Gi-Wong y colaboradores en 2002, quienes realizaron un estudio de micropropagación de *D. muscipula* por cultivo de brotes donde observaron que la proliferación era más efectiva en medio 1/3 MS suplementado con 2.3 μM Cinetina con un pH de 5.5.

Existen pocos o ningún trabajo de investigación en las plantas insectívoras con relación a una fitohormona como las giberelinas, Coles *et al.*, 1999, señalan que la giberelinas que se producen en las plantas, están relacionadas con diferentes procesos de su desarrollo, incluyendo la germinación, el crecimiento de brotes, la floración y el desarrollo de frutos;

por lo que en la agricultura, es común modificar dichos procesos, mediante la aplicación exógena de giberelina.

Por ejemplo, en 2007, González y colaboradores probaron el efecto de la aplicación de ácido giberélico sobre el crecimiento de coliflor, donde observaron un efecto no significativo de la fitohormona para ambas etapas de siembra sobre las variables de masa seca total y altura de la planta. Mientras que, Mendoza y colaboradores (2009), compararon la aplicación de un biofertilizante a base de bacterias del género *Azospirillum* sp, contra la aplicación de giberelinas y la fertilización química en el crecimiento de plantas de pimiento morrón, donde se observó que las plantas tratadas con giberelina a 250 ppm promueve la máxima altura en estas plantas.

Y más recientemente, Ortega-Martínez y colaboradores en 2013 observaron efectos significativos en los tratamientos de giberelina con respecto al testigo, donde destacaron los tratamientos de 10000 y 8000 $\mu\text{g/L}$ de giberelinas, se observó un incremento en la altura, diámetro de tallo y área foliar en las plántulas de tomate.

Dado que una de las razones para el uso comercial de las giberelinas, es acelerar la transición de la fase juvenil a la fase adulta de las plantas en cultivo (Jordán y Casaretto, 2006), pero hasta el momento no se han encontrado referencias sobre el uso de giberelinas en el crecimiento de *D. muscipula*, una especie de lento crecimiento que presenta una alta demanda en el mercado a causa de su atractivo ornamental, el presente trabajo busca ampliar el conocimiento sobre el efecto de éste promotor del crecimiento en la fisiología y el crecimiento de *D. muscipula*, bajo condiciones de invernadero, para lo cual, se plantean los siguientes objetivos:

III. Objetivos.

Objetivo general: Analizar el efecto de diferentes concentraciones de ácido giberélico (0, 30, 60 y 120 mg.L^{-1}) en el crecimiento de plantas carnívoras (*Dionaea muscipula*), cultivadas en condiciones de invernadero.

Objetivos particulares:

- Determinar el efecto de diferentes concentraciones de giberelina (0, 30, 60 y 120 mg.L^{-1}) en el tamaño de las plantas (diámetro) y de las trampas (largo y ancho) de *Dionaea muscipula*, de dos edades diferentes.

- Analizar el efecto de las diferentes concentraciones de giberelina (0, 30, 60 y 120 mg.L⁻¹), en el crecimiento (peso fresco-peso seco y número de hojas) de plantas carnívoras (*Dionaea muscipula*), de dos edades diferentes.
- Analizar el efecto de las diferentes concentraciones de giberelina seleccionadas, en la actividad fotosintética de *Dionaea muscipula*.

IV. Materiales y Métodos.

Teniendo en cuenta los resultados de un experimento preliminar con plantas de *D. muscipula*, en el que no se encontró efecto positivo en su crecimiento al utilizar concentraciones menores a 15 mg.L⁻¹, se determinó que las concentraciones utilizadas en el presente trabajo fueran de 0, 30, 60 y 120 mg mg.L⁻¹ de Ác. Giberélico comercial de la marca RaliGeb con un contenido de ácido giberelico del 15%.

Como material experimental se utilizaron plantas de tamaños y edades diferentes, considerando plantas de aproximadamente un año (diámetro de 3.9 ± 0.3 cm), estadísticamente diferentes ($p < 0.001$) de las plantas de alrededor de dos años ($4.67.0 \pm 0.5$ cm). Se mantuvieron individualmente en recipientes de plástico de 225 cm², mismos que estuvieron cubiertos para conservar la humedad ambiente mayor al 60%, requerida por *Dionaea muscipula* (Gibson y Waller, 2009) y como sustrato se utilizó una capa de 4 cm de Peatmoss (Fig. 2).



Fig. 2. Recipientes con plantas de *D. muscipula* en cultivo.

Antes de iniciar los tratamientos, las plantas recién transplantadas tuvieron un tiempo de aclimatación de una semana a las condiciones del invernadero y se mantuvieron durante las 10 semanas que duró el experimento, a T° ambiente (entre 15 y 40 °C, humedad superior al 70% e irradiación máxima de 230 $\mu\text{Mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (medido mediante un medidor Hansatech modelo SKP 200).

Los tratamientos tuvieron cuatro repeticiones cada uno, dando un total de 32 unidades experimentales (4 tratamientos X 2 tamaños X 4 repeticiones). Y la aplicación de la giberelina se realizó semanalmente y en forma individual a cada unidad experimental. Para lo cual, mediante el uso de una jeringa, se roció a punto de goteo, 3 mL de la solución correspondiente en toda la planta, incluyendo zona de crecimiento, hojas y trampas. Cabe señalar que, para evitar la interferencia de otros factores, no se agregó ningún tipo de fertilizante, ya que el Peat moss es *Sphagnum* molido, el cual es el sustrato natural de las plantas de *D. muscipula* (Lazcano Villarreal, 2014) y al estar tapados los contenedores de las plantas, éstas no tuvieron oportunidad de atrapar insectos.

Tanto al inicio como a la mitad (5 semanas) y al final (10 semanas) de los tratamientos, se midieron las siguientes variables de respuesta:

1) Morfología de las plantas:

- a) Número de hojas (mediante conteo directo).
- b) Diámetro de las plantas, con ayuda de un vernier.
- c) Largo y ancho de las hojas (peciolo).
- d) Largo y ancho de las trampas.

Para lo cual, se tomaron las medidas correspondientes al largo y ancho de hojas (peciolos) y trampas, con un vernier de metal y según se señala en la Fig. 3.

Fig. 3. Variables medidas, respecto al tamaño de las plantas: diámetro (b), largo y ancho de las hojas (c1 y c2) y largo y ancho de las trampas (d1 y d2).



2) Variables de crecimiento:

- a) **Peso fresco:** Con los datos iniciales y finales del peso fresco de las plantas extraídas de sus recipientes, pesadas en una balanza analítica MRC ASB-220-C2-V2, se calculó el Índice de Crecimiento, según la fórmula descrita por Tokarz *et al.* (2018):

$$GI = [(FWb - FWa)/FWb] \times 100, \text{ donde:}$$

FWa = Peso fresco inicial

Y FWb = Peso fresco final

- b) **Relación peso fresco/peso seco:** Al final del experimento, una vez obtenidos los pesos frescos de las plantas, éstas se colocaron en bolsas de papel de estraza y se secaron, durante 24 hrs en horno marca MAPSA, modelo HDP-645, a 80 °C. Para volver a pesarse en la balanza analítica y registrar los valores correspondientes a peso seco.

c)

De las variables cuantificadas se obtuvieron los promedios de los valores y se realizaron los análisis estadísticos correspondientes (ANOVA de uno y dos factores, según las variables analizadas), para saber si existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Se realizaron las pruebas de Tukey correspondientes, en los resultados cuyas variables mostraron diferencias estadísticas, para conocer la significancia de tales diferencias.

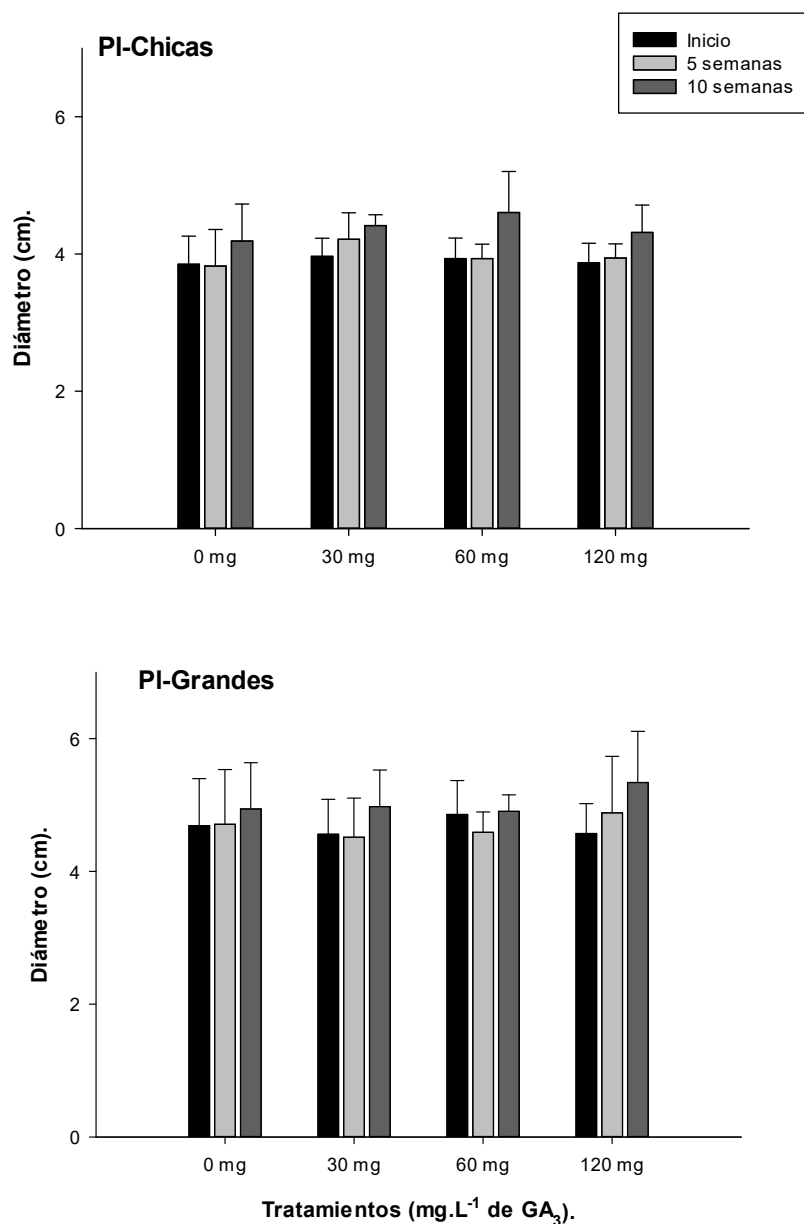
3) Actividad fotosintética mediante fluorescencia.

Las plantas grandes de cada tratamiento (n=4) acondicionadas durante 60 minutos a la misma condición lumínica [250 μ moles de fotones (400-700 nm)/m²·s], temperatura (25 °C) humedad relativa (70 °C). La actividad fotosintética operacional bajo esta condición lumínica se obtuvo dando un pulso de luz saturante de (3,000 μ moles/m²·s) de luz azul (450 nm) por 0.7 seg. La actividad se midió según la siguiente fórmula (González *et al.*, 2008):

$$\Phi_{PSII} = \frac{Fm' - Fs}{Fm'}$$

V. Resultados.

Al inicio del experimento, se comprobó que no hubiera diferencias significativas en el diámetro de las plantas respecto a los diferentes tratamientos pero sí entre las plantas chicas (con 3.91 ± 0.3 cm) y las grandes (con 4.67 ± 0.6 cm) (Gráf. 1).



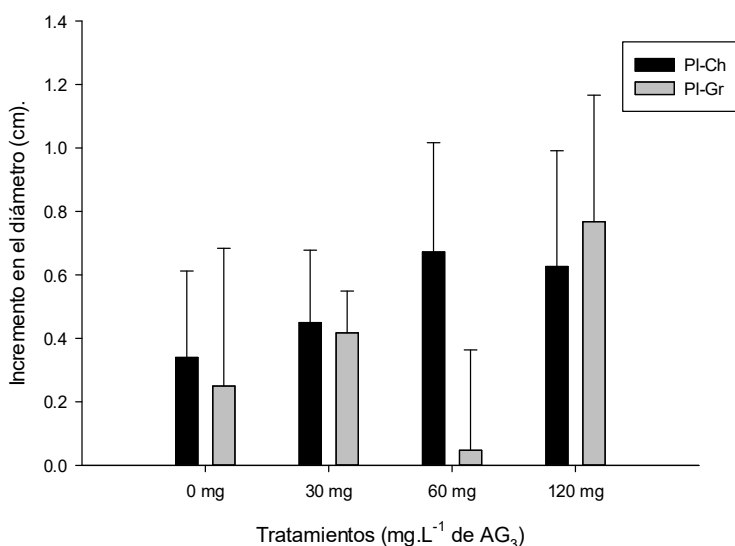
Gráfica 1. Diámetro de las plantas de *D. muscipula* en los diferentes tratamientos, a lo largo del experimento. Las diferencias entre los tratamientos no fueron significativas.

En el transcurso de las 10 semanas en tratamiento, se encontró que el diámetro de las plantas sí se incrementó en todos los tratamientos, sin embargo las diferencias entre los tratamientos no fueron significativas (Gráf. 1), pero cabe señalar que la diferencia final del diámetro entre plantas chicas (con 4.38 ± 0.4 cm) y grandes (con 5.04 ± 0.6 cm) siguió siendo significativa. En promedio, se puede observar que, el mayor diámetro de las plantas chicas se encontró en el tratamiento de 60 mg (con 4.61 ± 0.6 cm); mientras que en las plantas grandes, el mayor diámetro se presentó en el tratamiento de 120 mg.L^{-1} de giberelina, en el cual las plantas alcanzaron un diámetro de 5.3 ± 0.8 cm.

Tabla 1. Resultados del Análisis de Varianza de dos factores respecto al incremento del diámetro de las plantas.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Suma de medios	F	P
Tamaño de plantas	1	0.0893	0.0893	0.656	0.426
Concent. de Giberelina	3	0.429	0.143	1.051	0.388
Interacción	3	0.922	0.307	2.258	0.107
Residual	24	3.264	0.136		
Total	31	4.704	0.152		

Comparando las diferencias entre el diámetro final y el inicial, se obtuvo el incremento del diámetro en cada tratamiento (Tabla 1 y Gráf. 2), sin embargo, debido a la variabilidad entre los resultados, no se encontraron diferencias significativas, ni entre los tratamientos, ni entre las plantas chicas y grandes.

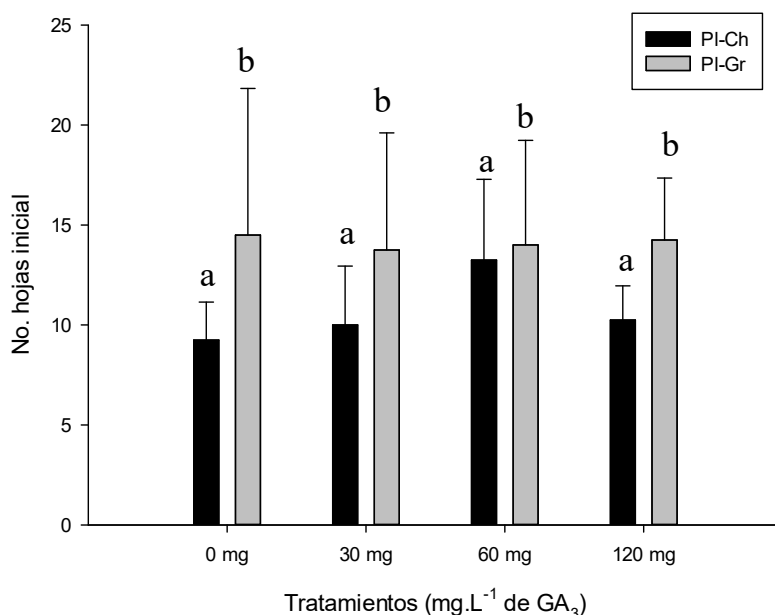


Gráfica 2. Incremento del diámetro de las plantas de *D. muscipula* al final de las 10 semanas de experimento. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos.

Aunque la diferencia entre los tratamientos no resultó significativa, se puede observar en la Gráf. 2 que, respecto al control, las plantas chicas en promedio presentan un mayor incremento del diámetro en los tratamientos donde se aplicó giberelina, encontrándose el mayor aumento en el tratamiento de 60 mg.L⁻¹, con 0.67 ± 0.3 cm, seguido del tratamiento de 120 mg.L⁻¹, con 0.63 ± 0.4 cm.

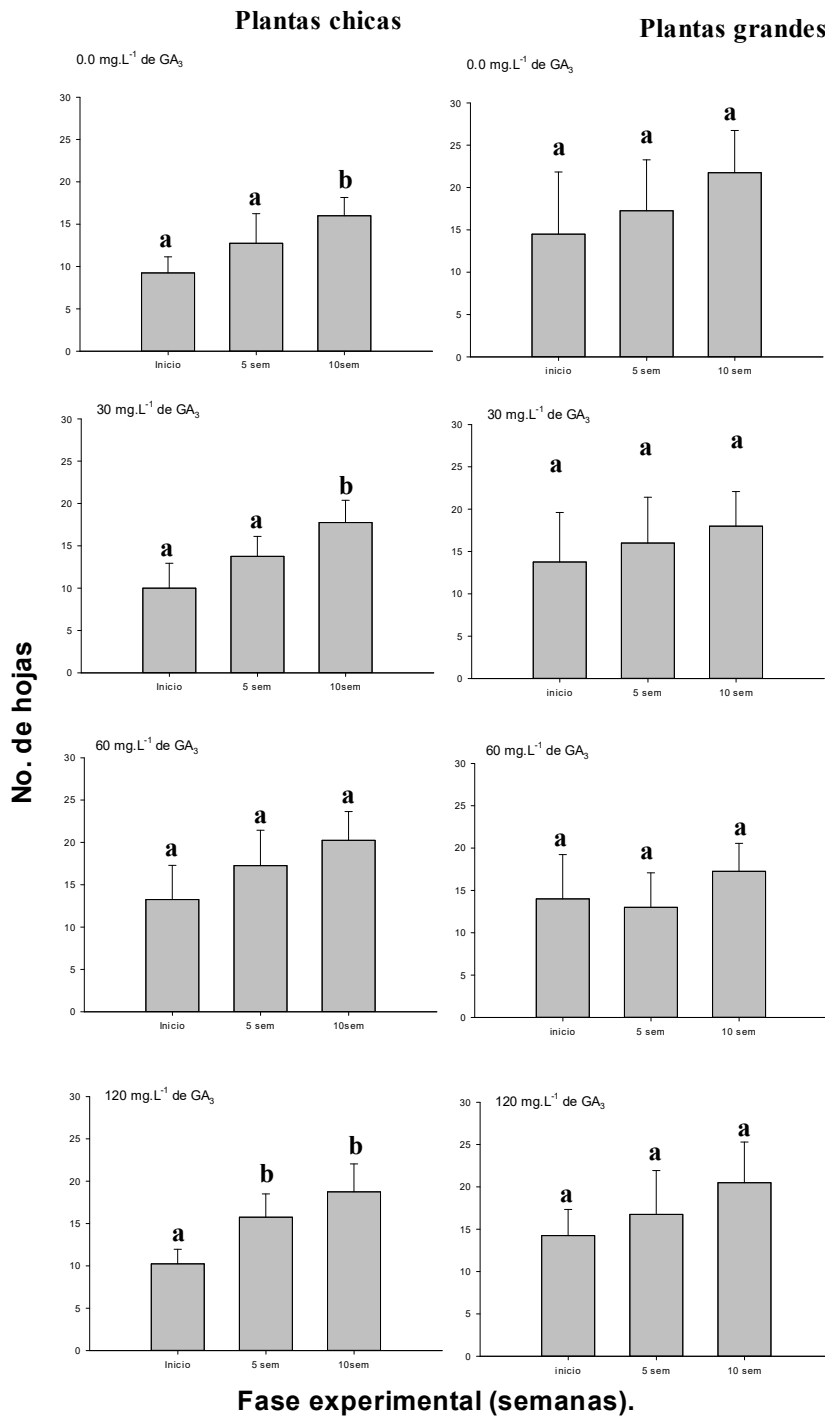
Por otro lado, el mayor incremento en el diámetro en las plantas grandes, se presentó en el tratamiento de 120 mg.L⁻¹ de giberelina, con un aumento de 0.77 ± 0.4 cm en el diámetro, mientras que el menor crecimiento en el diámetro, se encontró en el tratamiento de 60 mg.L⁻¹, con solo 0.05 ± 0.3 cm, el cual es menor al testigo.

Respecto al número de hojas presentes en las plantas desde el inicio del experimento (Gráf. 3), aunque los valores se encontraron con cierta variabilidad, entre los tratamientos no se encontraron diferencias significativas, pero sí ($p < 0.05$) entre el número de hojas de las plantas chicas (con 10.7 ± 3) y de las plantas grandes (con 14.1 ± 5).



Gráfica 3. Número de hojas presentes en las plantas de *D. muscipula*, al inicio del experimento.

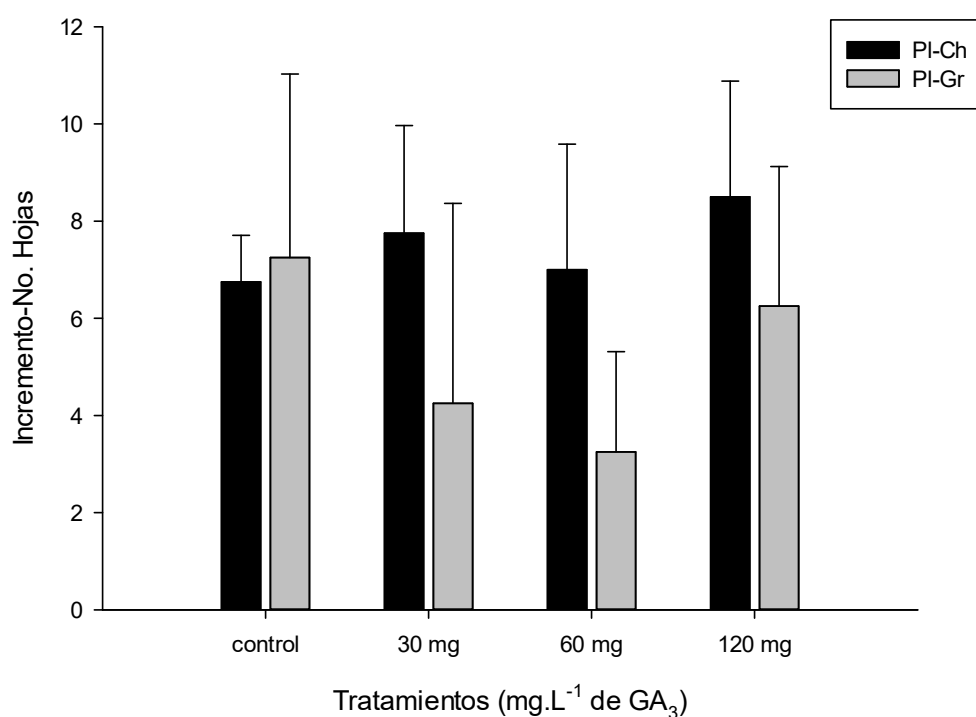
El número de hojas se vio incrementado significativamente en las plantas chicas en los tratamientos control, 30 y 120 mg.L⁻¹ de giberelina (Gráf. 4), pero es importante señalar que en las plantas chicas se encontró un incremento significativo en el número de hojas, desde la quinta semana de tratamiento el tratamiento de mayor concentración de giberelina (120 mg.L⁻¹), mientras que en las plantas grandes, las diferencias mostradas no fueron significativas en ninguno de los tratamientos utilizados.



Gráfica 4. Número de hojas promedio de *D. muscipul*, en los diferentes tratamientos, respecto al inicio, mitad y final del experimento. Las letras señalan diferencias significativas ($p < 0.05$).

Con los datos anteriores, se pudo comparar el aumento en el número de hojas en las plantas y aunque no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos utilizados, sí hubo diferencias entre el número de hojas, respecto al tamaño de las plantas (Tabla 2), siendo significativamente mayor número de hojas incrementadas en las plantas chicas (entre 7 y 8 hojas) que en las plantas grandes, las cuales aumentaron entre 7 y 8 hojas (Gráf. 5).

Aunque las diferencias entre los tratamientos no fueron significativas, se puede observar que en las plantas chicas, el mayor aumento en el número de hojas (8.5 ± 2.4) se encontró en el tratamiento de 120 mg.L^{-1} de giberelina (Gráf. 5), mientras que en las plantas grandes, el tratamiento control fue donde hubo un mayor aumento en el número de hojas (7.3 ± 3.8), seguido del tratamiento de 120 mg.L^{-1} de giberelina (6.3 ± 2.9).



Gráfica 5. Incremento en el número de hojas al cabo de las 10 semanas del experimento, respecto al tamaño de las plantas de *D. muscipula* y los tratamientos de giberelina utilizados.

Tabla 2. Resultados del Análisis de Varianza para el Incremento en número de hojas.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Suma de medios	F	P
Tamaño de plantas	1	40.500	40.500	5.240	0.031 *
Concent. de Giberelina	3	24.750	8.250	1.067	0.381
Interacción	3	22.750	7.583	0.981	0.418
Residual	24	185.500	7.729		
Total	31	273.500	8.823		

Aunque la formación de brotes no era una variable a considerar, al final del experimento se observó que en algunas plantas se presentaba el desarrollo de nuevas áreas de crecimiento, por lo que cabe señalar que el único tratamiento de las plantas chicas, en donde se encontró formación de brotes fue al utilizar 120 mg.L⁻¹ de ác. giberélico (Tabla 3). Mientras que en las plantas grandes, aún cuando en el control se encontró una planta con un brote, el número de éstos aumentó (encontrando hasta dos brotes por planta) en los tratamientos con giberelina.

Tabla 3. Número de plantas de *D. muscipula* con brotes, a partir de las 4 repeticiones en cada tratamiento.

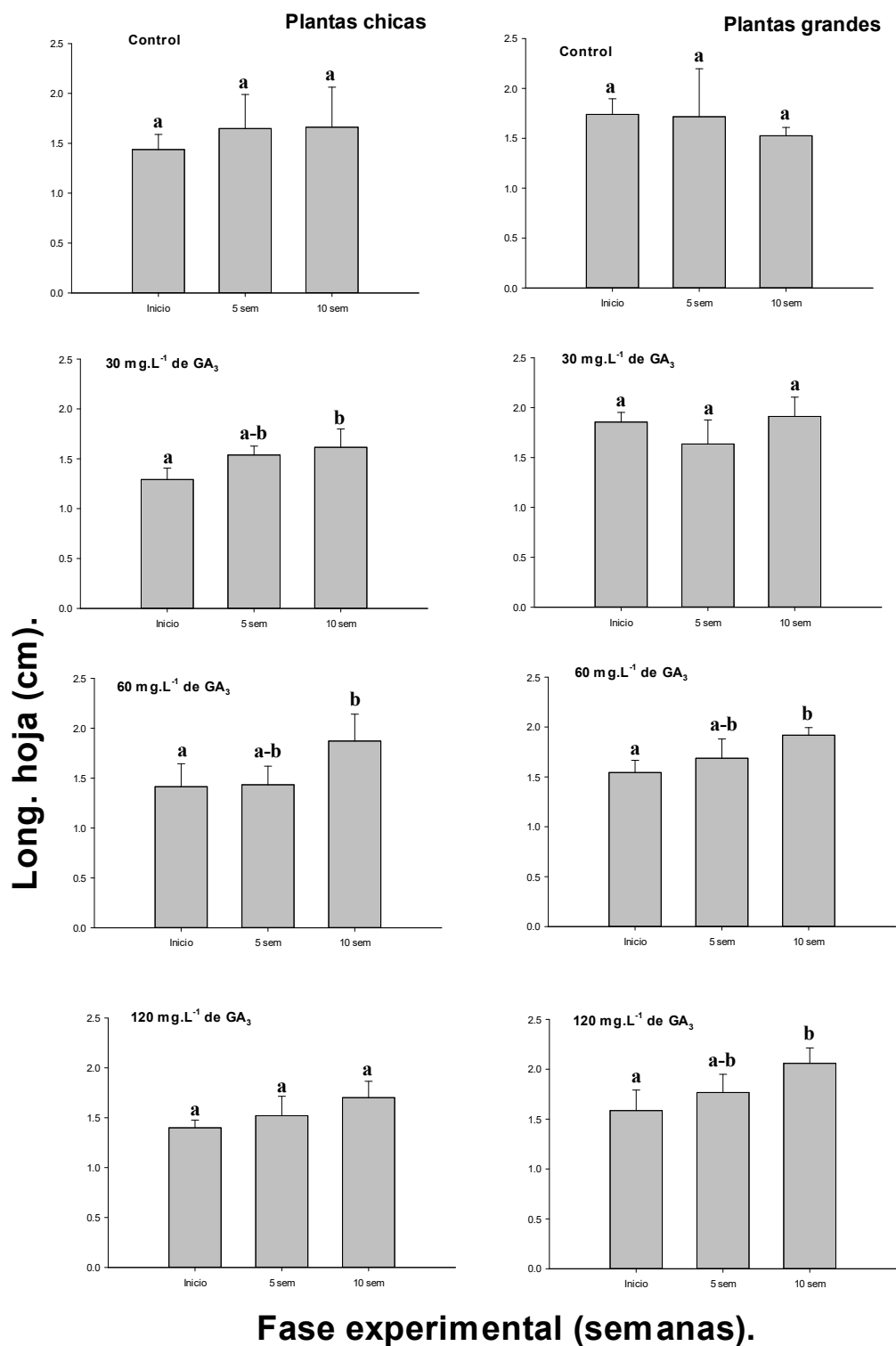
Tratamiento (mg.L ⁻¹ de giberelina)	No. de Plantas ch con brotes.	No. total de brotes	No. de Plantas gr con brotes.	No. total de brotes
0.0	0	0	1	1
30	0	0	3	4
60	0	0	3	4
120	3	3	2	3

En cuanto a la longitud inicial de las hojas y los cambios ocurridos en el transcurso del experimento (Gráf. 6) se encontró que, aunque la respuesta fue diferente entre las plantas chicas y grandes, la aplicación de giberelina tiende a incrementar la longitud de las hojas de *D. muscipula* (Tabla 3). En las plantas chicas, el mayor incremento en la longitud de las hojas se presentó en el tratamiento de 30 mg.L⁻¹ de Ac. giberélico, con un aumento de 0.38 ± 0.27 cm; mientras que en las plantas grandes fue en el tratamiento de 120 mg.L⁻¹ de Ac. Giberélico, con un incremento de 0.47 ± 0.25 cm, entre los valores finales e iniciales del experimento.

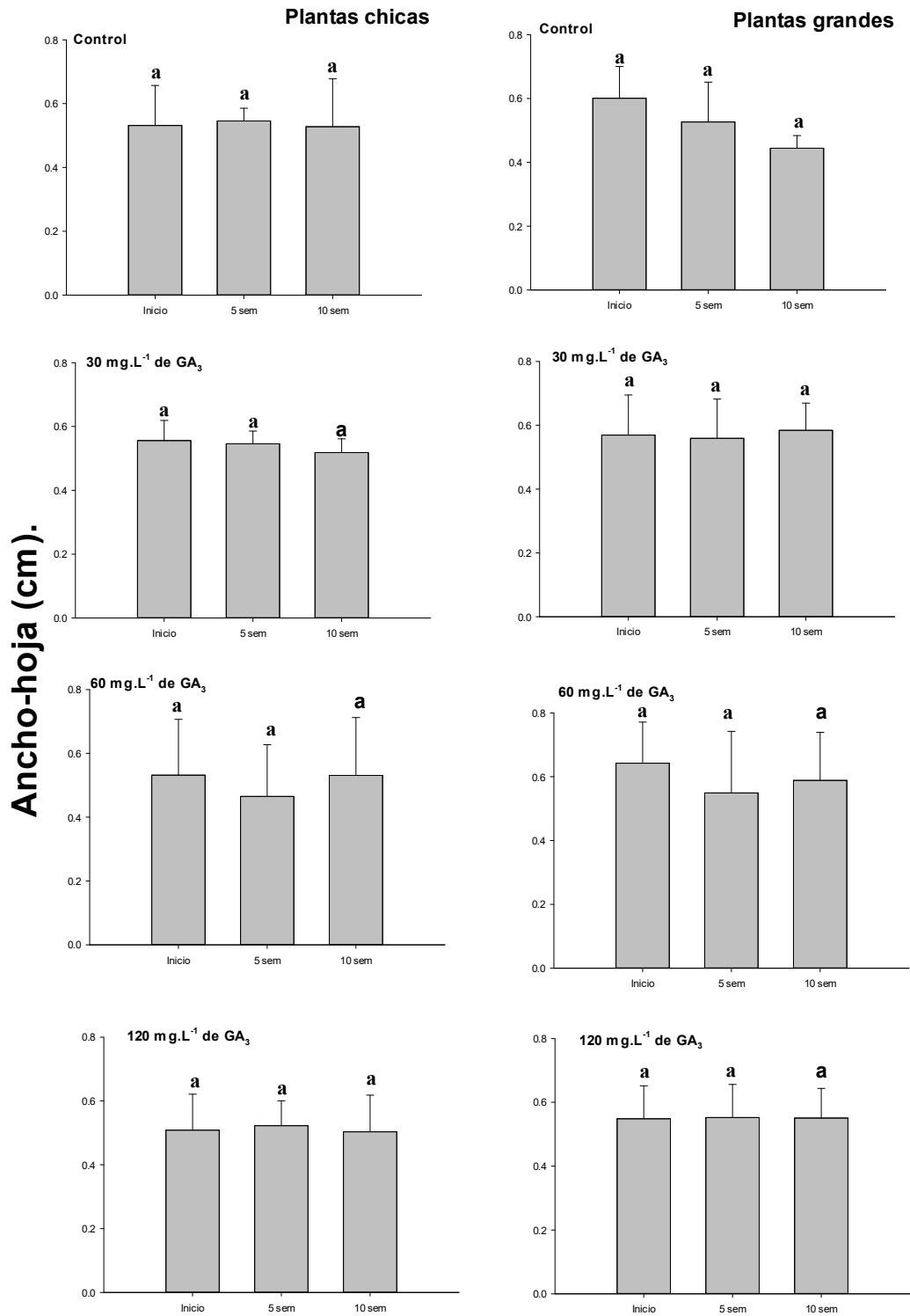
Por otro lado, en el ancho de las hojas, aunque hubo diferentes respuestas en los diferentes tratamientos, las diferencias no fueron estadísticamente significativas tanto en los tratamientos como entre los dos tamaños de planta utilizados (Tabla 3 y Gráf. 7). Al inicio del experimento, el promedio en el ancho de las hojas de las plantas chicas fue de 0.53 ± 0.11 cm y el promedio de las plantas grandes fue de 0.59 ± 0.12 ; pero al final del experimento, el promedio en el ancho de las hojas de las plantas chicas fue de 0.52 ± 0.12 cm y de las plantas grandes de 0.54 ± 0.11 cm; por lo que la tendencia fue una disminución en el ancho de las hojas de *D. muscipula*.

Tabla 4. Resultados del ANOVA para las variables de hoja y trampas medidas. Los asteriscos indican diferencias significativas.

Ancho de las trampas.					
Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Suma de medios	F	P
Tamaño de plantas	1	0.272	0.272	30.767	<0.001 *
Concent. de Giberelina	3	0.113	0.0376	4.259	0.015 *
Interacción	3	0.0134	0.00448	0.507	0.681
Residual	24	0.212	0.00884		
Total	31	0.610	0.0197		
Largo de las trampas.					
Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Suma de medios	F	P
Tamaño de plantas	1	0.125	0.125	9.731	0.005 *
Concent. de Giberelina	3	0.00239	0.000796	0.0621	0.979
Interacción	3	0.0875	0.0292	2.279	0.105
Residual	24	0.307	0.0128		
Total	31	0.522	0.0168		
Ancho de las hojas.					
Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Suma de medios	F	P
Tamaño de plantas	1	0.00383	0.00383	0.277	0.604
Concent. de Giberelina	3	0.0263	0.00875	0.633	0.601
Interacción	3	0.0299	0.00995	0.720	0.550
Residual	24	0.332	0.0138		
Total	31	0.392	0.0126		
Longitud de las hojas.					
Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Suma de medios	F	P
Tamaño de plantas	1	0.160	0.160	3.463	0.075 *
Concent. de Giberelina	3	0.468	0.156	3.384	0.035 *
Interacción	3	0.313	0.104	2.264	0.107
Residual	24	1.106	0.0461		
Total	31	2.047	0.066		



Gráfica 6. Cambios ocurridos en la longitud de las hojas de *D. muscipula*, a lo largo del experimento. Las letras indican las diferencias significativas ($p < 0.05$), en cada uno de los tratamientos utilizados.



Fase experimental (semanas).

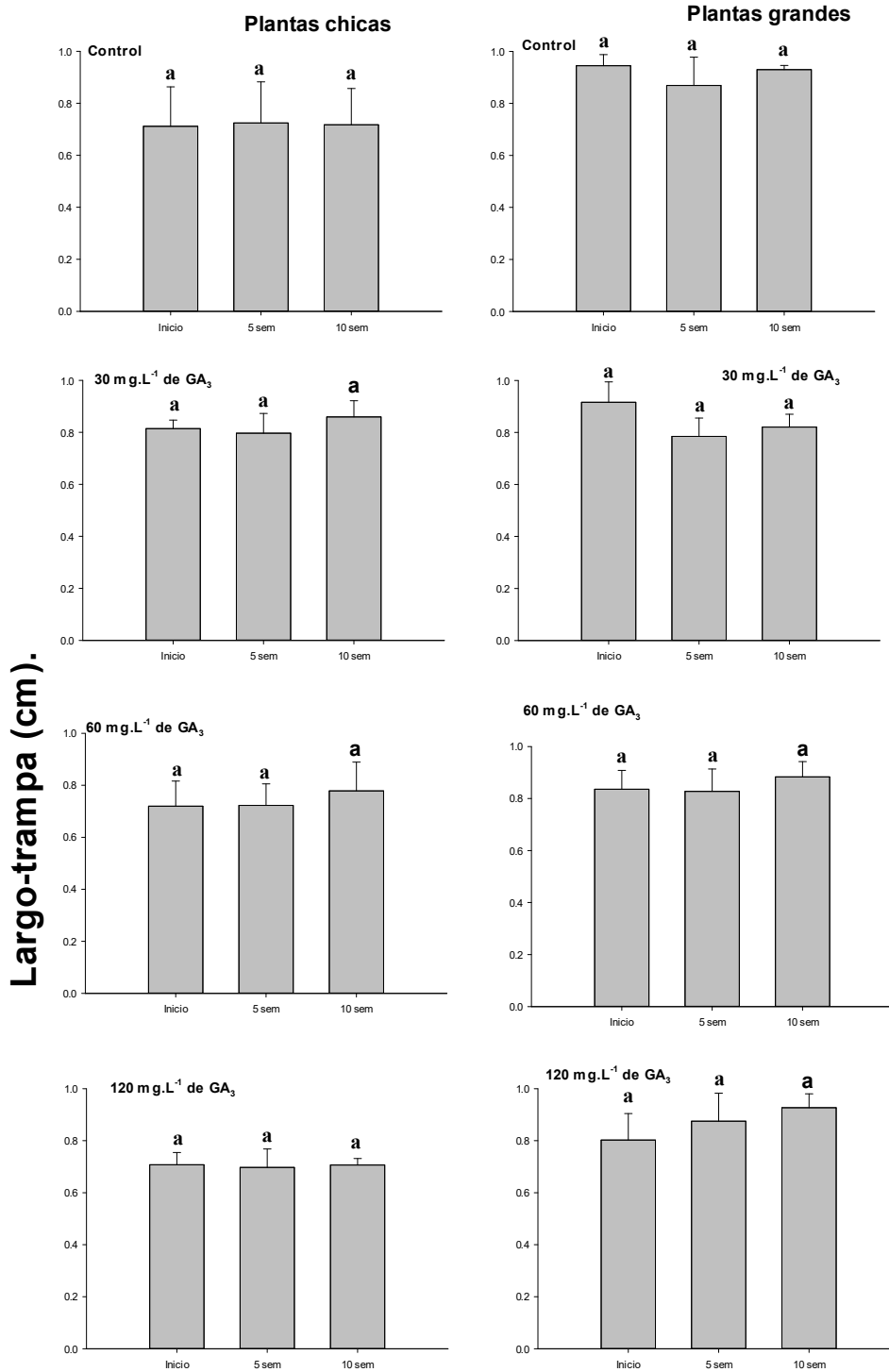
Gráfica 7. Cambios ocurridos en el ancho de las hojas de *D. muscipula*, a lo largo del experimento.

Las letras indican que las diferencias observadas no fueron significativas.

Respecto a los resultados encontrados en el largo de la trampa (Gráf. 8), tampoco hubo diferencias significativas entre los tratamientos utilizados (Tabla 3); pero entre los dos tamaños de plantas que se estudiaron, el largo de las trampas fue significativamente diferente durante las tres etapas del experimento. Al inicio del experimento, el promedio general del largo de las trampas de las plantas chicas (considerando todas las unidades experimentales) fue de 0.738 ± 0.1 cm y al final del experimento fue de 0.765 ± 0.1 cm; mientras que en las plantas grandes, de un promedio inicial de 0.875 ± 0.1 , el largo de las trampas se incrementó a 0.890 ± 0.12 cm.

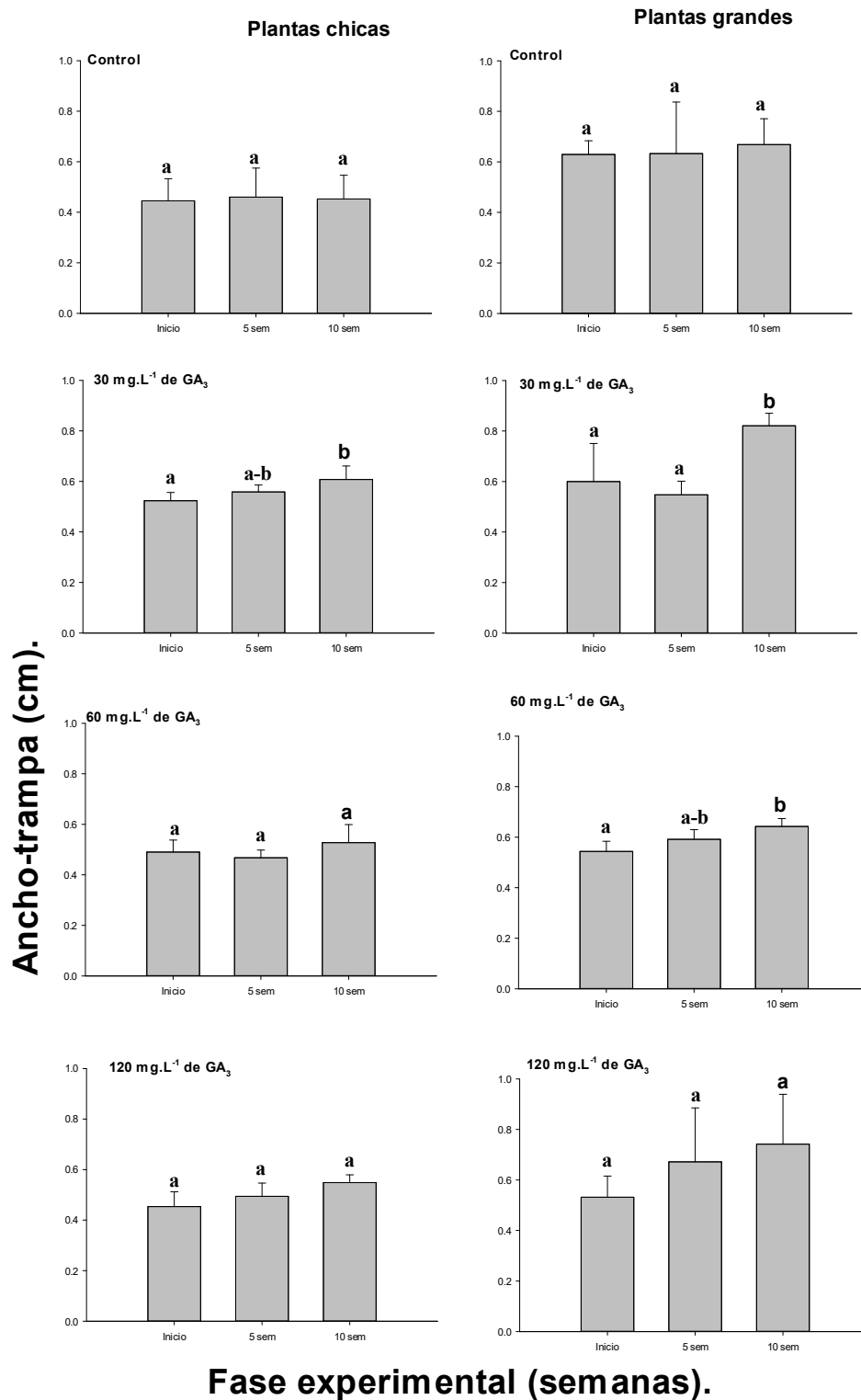
En los valores obtenidos del ancho de las trampas en las tres etapas del experimento (Gráf. 9), los resultados mostraron un efecto significativo en los diferentes tratamientos utilizados (Tabla 3). En el caso de las plantas chicas, cabe resaltar que, aunque en el tratamiento de 120 mg.L^{-1} de Ac. giberélico no se encontraron diferencias significativas a lo largo del experimento, fue el tratamiento en el que hubo un mayor aumento en el ancho de las trampas, con un incremento de 11 ± 0.01 cm entre el inicio y el final del experimento, seguido del tratamiento de 30 mg.L^{-1} , en el cual hubo un incremento significativo de 0.078 ± 0.03 cm. En cambio, para las plantas grandes, se encontró un incremento estadísticamente significativo del ancho de las trampas, tanto en el tratamiento de 30 mg.L^{-1} (con un aumento de 0.2209 ± 0.16 cm entre el inicio y el final del experimento), como en el de 60 mg.L^{-1} (con un aumento de 0.0992 ± 0.03 cm).

Cabe señalar que en lo general, el ancho de las trampas en las plantas chicas fue significativamente menor que el de las trampas grandes, a lo largo del experimento (Gráf. 9); de tal forma que el cambio fue de 0.4779 ± 0.06 cm al inicio del experimento, a 0.5340 ± 0.08 cm al final del experimento; mientras que el ancho de las trampas en las plantas grandes cambió de 0.5760 ± 0.09 cm al inicio del experimento, a 0.7183 ± 0.12 cm al final del experimento, por lo que, para ambos tamaños de *D. muscipula*, la tendencia fue a aumentar el ancho de las trampas y aunque el incremento no fue significativamente diferente en todos los tratamientos, en los tratamientos donde se aplicó el ác. giberélico, el incremento en el ancho de las trampas fue mayor al tratamiento control.



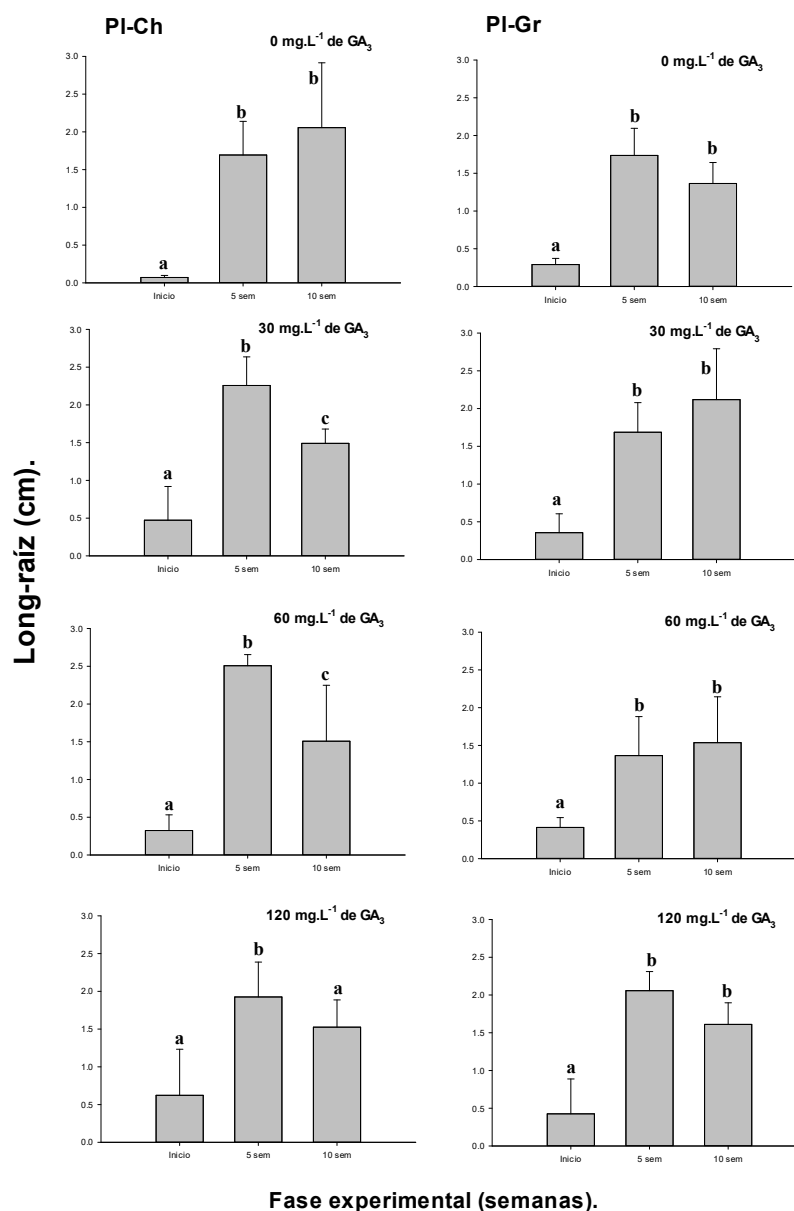
Fase experimental (semanas).

Gráfica 8. Valores del longitud de las trampas de *D. muscipula*, a lo largo del experimento. Las letras indican que las diferencias encontradas, no fueron estadísticamente significativas.

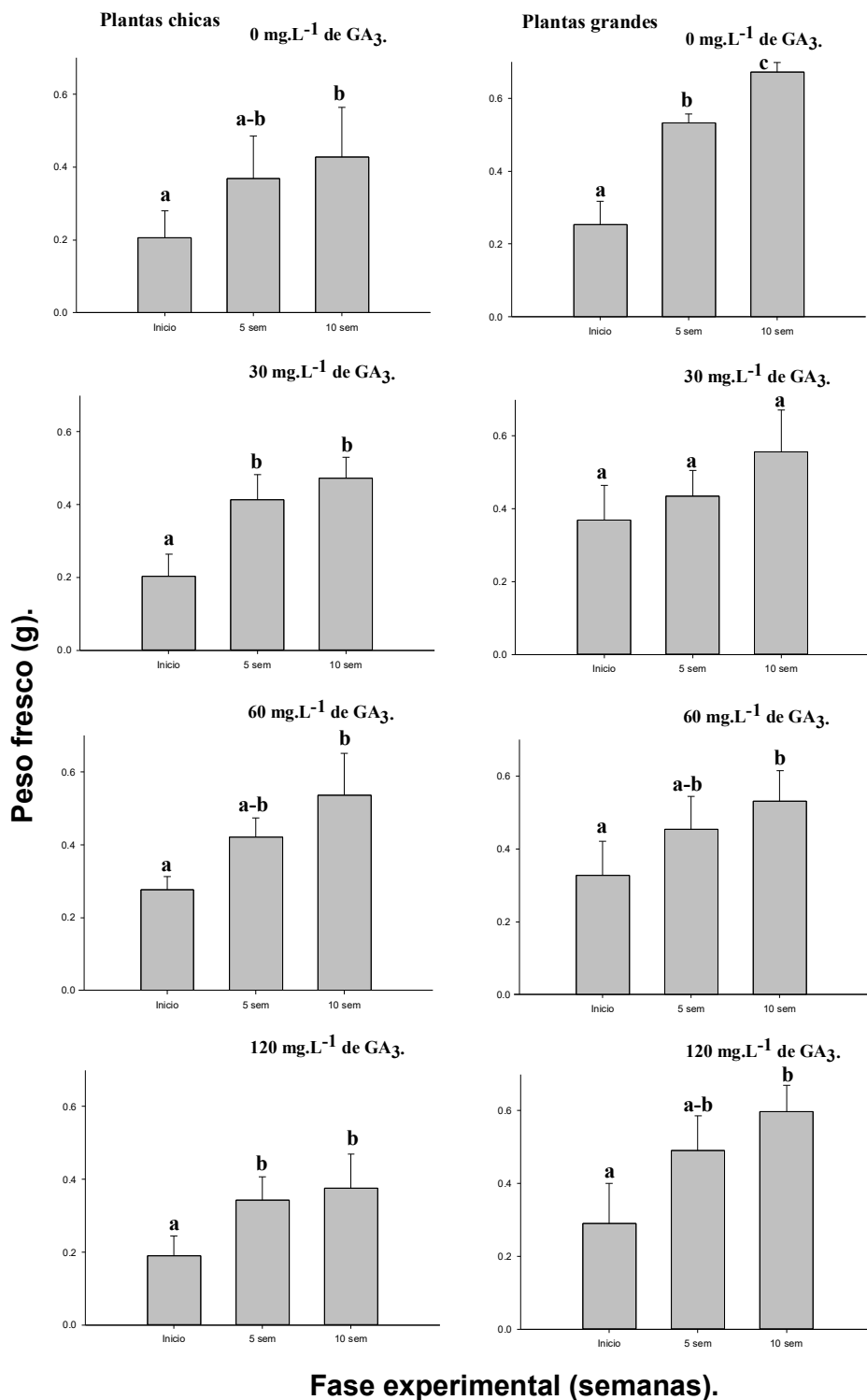


Gráfica 9. Cambios ocurridos en el ancho de las trampas de *D. muscipula* a lo largo del experimento. Las letras indican las diferencias significativas ($p < 0.05$), en cada uno de los tratamientos utilizados.

Aunque el sistema radicular de las plantas carnívoras ha sido poco estudiado, en los resultados del presente trabajo se puede observar que, en las primeras cinco semanas del experimento, en todos los tratamientos utilizados hubo un incremento significativo en la longitud de la raíz (Gráf. 10). Pero, aunque las diferencias de la longitud de la raíz entre los tratamientos, al final del experimento no resultaron significativas, se observa un crecimiento diferenciado entre las plantas chicas y las grandes.



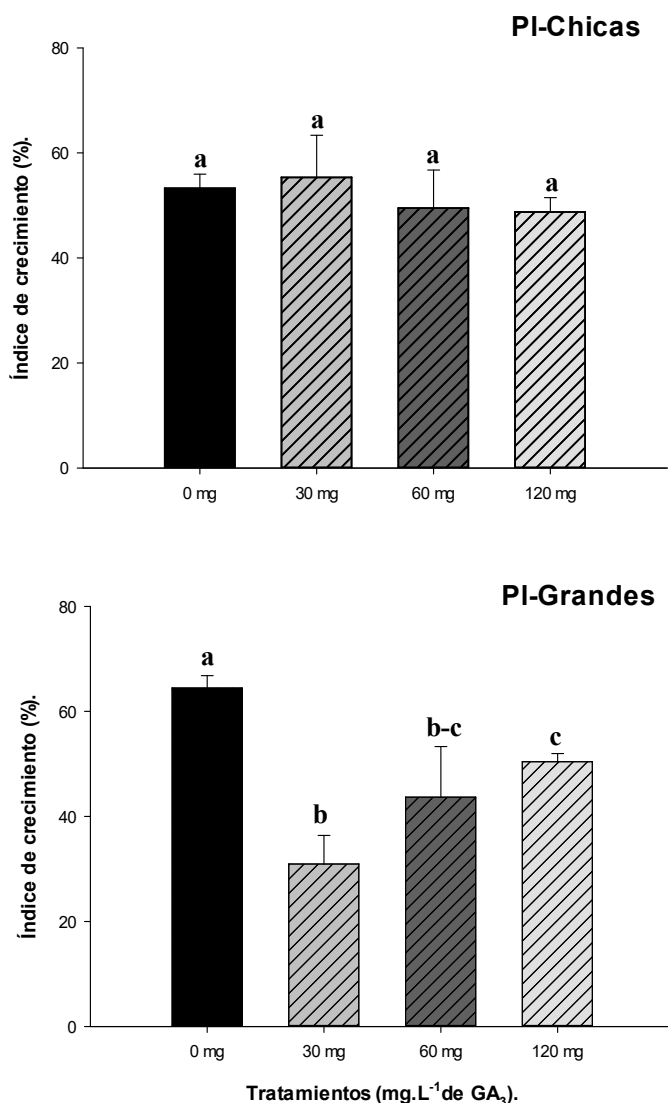
Gráfica 10. Valores de la longitud de la raíz, tanto en plantas chicas como grandes de *D. muscipula*, a lo largo del experimento. Las letras señalan las diferencias significativas ($p < 0.05$) encontradas en cada tratamiento.



Gráfica 11. Valores de peso fresco tanto en plantas chicas como grandes de *D. muscipula*, a lo largo del experimento. Las letras señalan las diferencias significativas ($p < 0.05$) encontradas en cada tratamiento.

Los cambios encontrados respecto al peso fresco de las plantas (Gráf. 11) indican que las plantas de *D. muscipula*, tanto chicas como grandes, tendieron a crecer significativamente a lo largo del experimento; sin embargo, al calcular el índice de crecimiento (Gráf. 12), se observa que, en las plantas chicas, no hubo una diferencia significativa entre los tratamientos (con valores promedio entre 46.9 y 57.4 %). En cambio, en las plantas grandes, el mayor índice de crecimiento se encontró en el tratamiento control (con 62.47 ± 5.5 %), seguido del tratamiento de 120 mg.L^{-1} de Ac. giberélico (con un significativamente menor 52.08 ± 4.8 %).

También cabe señalar que no se encontró diferencia significativa (a partir del arco seno de los valores) entre el índice de crecimiento de las plantas chicas (51.213 ± 7.5 %) y el índice de crecimiento de las plantas grandes (47.9914 ± 12.9 %).



Gráfica 12. Resultados obtenidos al calcular el índice de crecimiento, respecto al peso fresco de las plantas chicas y grandes de *D. muscipula*, en los diferentes tratamientos utilizados. Las letras señalan las diferencias significativas ($p < 0.05$) encontradas entre los tratamientos, a partir de los valores calculados del arco-seno del índice de crecimiento.

Tabla 4. Valores promedio de los pesos fresco y seco correspondientes a cada tratamiento, al final del experimento. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos.

Peso Fresco (g).		
Tratamiento	Plantas chicas	Plantas grandes
0 mg	0.3580 ± 0.20	0.8160 ± 0.43
30 mg	0.4570 ± 0.05	0.4625 ± 0.08
60 mg	0.4557 ± 0.05	0.4307 ± 0.05
120 mg	0.3101 ± 0.09	0.6622 ± 0.39
Peso seco (g).		
Tratamiento	Plantas chicas	Plantas grandes
0 mg	0.0494 ± 0.03	0.0838 ± 0.01
30 mg	0.0738 ± 0.007	0.0742 ± 0.008
60 mg	0.0734 ± 0.01	0.0754 ± 0.005
120 mg	0.0550 ± 0.01	0.0826 ± 0.02

Al final del experimento, todas las plantas de *D. miscipula* de los diferentes tratamientos fueron secadas al horno, para obtener los valores de peso seco, señalados en la Tabla 4. Cabe señalar que, tanto en el peso fresco final como en el peso seco de las plantas, se encontraron diferencias significativas entre las plantas chicas y grandes ($p < 0.05$), pero no entre los tratamientos; sin embargo, al calcular la relación entre el peso fresco y el peso seco de las plantas, sí se encontraron diferencias significativas, como se muestra en la Gráf. 13.

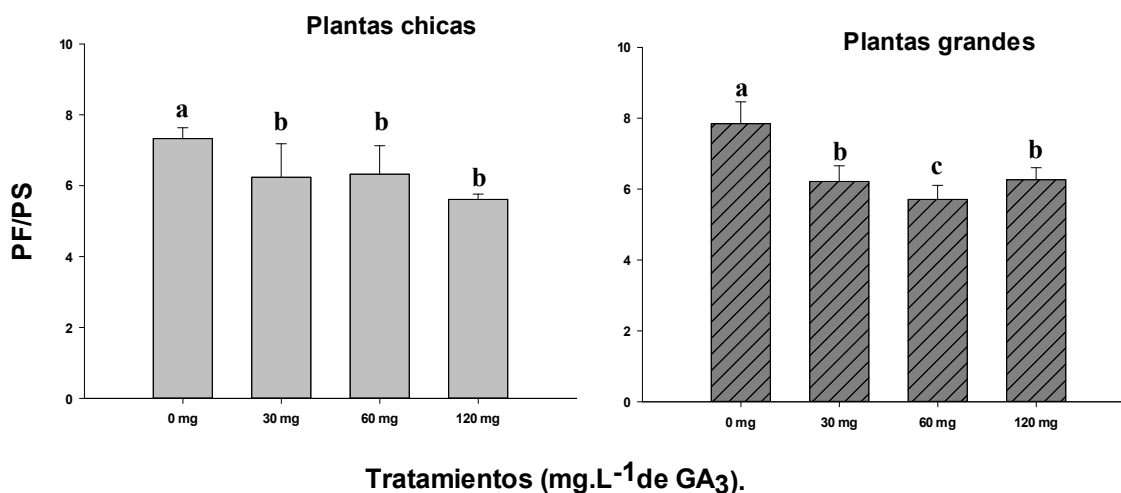
Es importante señalar que entre la relación PF/PS de las plantas chicas (6.376 ± 0.86) y las plantas grandes (6.51 ± 0.92), no se encontró diferencia significativa; pero sí hay un efecto significativo de la concentración de Giberelina (Tabla 5).

Respecto a las diferencias entre los tratamientos (Gráf. 13), el control es significativamente mayor a los tratamientos con ac. giberélico, tanto en plantas chicas de *D. muscipula* (7.33 ± 0.31) como en plantas grandes (7.845 ± 0.62). También cabe hacer la observación de que entre los tratamientos de las plantas grandes, en la concentración

de 60 mg.L⁻¹ de ac. giberélico se obtuvo significativamente, la menor relación entre PF/PS de las plantas de *D. muscipula* (5.711 ± 0.4).

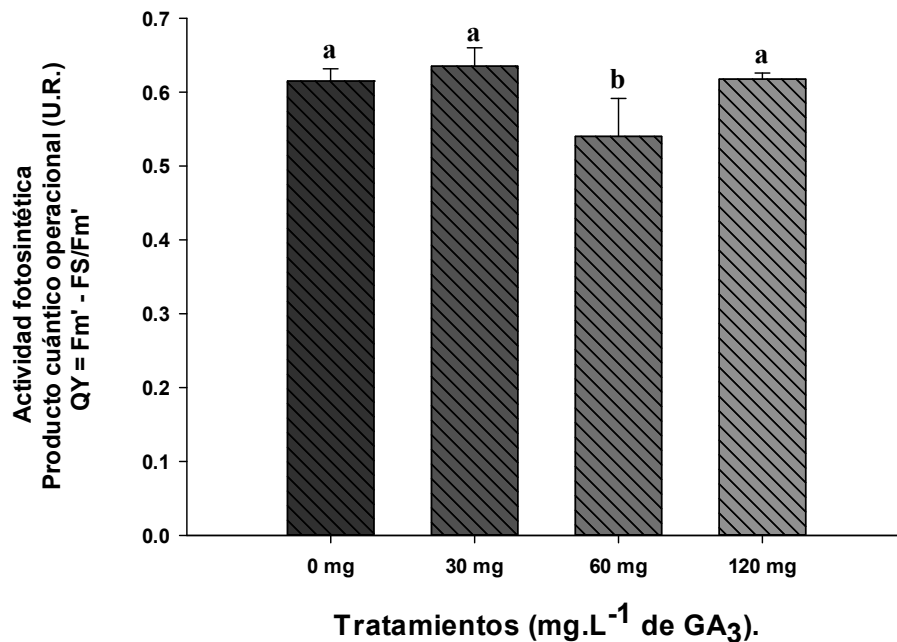
Tabla 5. Resultados del ANOVA para el Índice de crecimiento en las plantas. Los asteriscos indican la existencia de diferencias significativas.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Suma de medios	F	P
Tamaño de plantas	1	19.143	19.143	1.245	0.276
Concent. de Giberelina	3	256.360	85.453	5.559	0.005 *
Interacción	3	394.895	131.632	8.563	<0.001 *
Residual	24	368.948	15.373		
Total	31	1039.346	33.527		



Gráfica 13. Valores de la relación entre el peso fresco y el peso seco de las plantas chicas y grandes de *D. muscipula*, en los diferentes tratamientos utilizados. Las letras señalan las diferencias significativas ($p < 0.05$) encontradas entre los tratamientos.

Finalmente, los valores de la actividad fotosintética a partir de la fluorescencia medida en las plantas grandes (Gráf. 14), variaron entre 0.635 ± 0.02 en el tratamiento de 30 mg.L⁻¹ de Ác. giberélico y 0.54 ± 0.05 en el tratamiento de 60 mg.L⁻¹ de ac. giberélico, el cual resultó ser significativamente menor (Tabla 6).



Gráfica 14. Valores de la fluorescencia en plantas grandes de *D. muscipula*, al cabo de 10 semanas de experimento. Las letras indican las diferencias significativas ($p < 0.05$) encontradas entre los tratamientos.

Tabla 6. Resultados del ANOVA de un factor para los valores de la actividad fotosintética en plantas grandes de *D. muscipula*. El asterisco indica la existencia de diferencias significativas.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Suma de medios	F	P
Concent. de Giberelina	3	0.0214	0.00712	5.905	0.010 *
Residual	12	0.0145	0.00121		
Total	15	0.0358	33.527		

VI. Discusión.

Las plantas de *Dionaea muscipula*, también llamada “Venus Atrapamoscas” son plantas formadas por una roseta de hojas de 15 a 20 cm de diámetro, cuando son adultas (Lloyd, 1976), por lo que las plantas utilizadas en la presente investigación pueden considerarse aún como plantas jóvenes, ya que el promedio del diámetro, al término del experimento, se encontró aproximadamente, entre los 4.38 ± 0.4 cm para las plantas denominadas “chicas” y 5.04 ± 0.6 cm para las “grandes” (Gráf. 1), lo que indica que aún les falta por crecer al triple del tamaño alcanzado, hasta llegar a su edad adulta, misma que las plantas tardan alcanzan aproximadamente a los cinco años (Martel, 2019). Sin embargo, para fines comerciales, el tamaño alcanzado por las plantas al final del experimento es el más adecuado, ya que permite un flujo más rápido de las plantas y es el tamaño que más se demanda por los compradores que les interesa “verlas crecer” y permite una mayor facilidad de transporte.

Como se indica en la Gráf. 2, a pesar de que no se encontraron diferencias significativas respecto al incremento del diámetro en las plantas, se puede observar que, a excepción del tratamiento con 120 mg.L^{-1} de ác. giberélico, es en las plantas chicas donde, en promedio, se presenta un mayor incremento del diámetro de las plantas. Esto puede estar relacionado con el hecho de que, mediante diferentes estudios en su hábitat natural (Carolina del Norte), se ha encontrado que las poblaciones están estrechamente relacionadas con la presencia estacional de incendios, los cuales resisten gracias a que sus órganos subterráneos son resistentes al fuego; lo cual, permite que las plántulas de *D. muscipula* que crecen rápido, puedan competir con la vegetación circundante y mediante éste mecanismo, ganar espacios terrestres que, de otra manera les sería imposible conseguir debido a su lento crecimiento (Luken, 2005 y 2007). Lo cual se puede relacionar también con las respuestas obtenidas en el presente trabajo, respecto al incremento en el número de hojas (Gráf. 5) y el mayor índice de crecimiento (Gráf. 12) que presentaron las plantas chicas (un estadísticamente significativo 4% más), respecto a las plantas grandes.

A pesar de que con el tratamiento de 120 mg.L^{-1} de ac. giberélico se obtuvo el mayor incremento del diámetro en las plantas grandes (0.77 ± 0.4 cm, Gráf. 2), a partir de los resultados obtenidos en el presente trabajo se puede decir que, con las concentraciones de ác. giberélico utilizadas no se encontró un efecto significativo en el incremento del diámetro de las plantas de *D. muscipula*. Pero sí es importante señalar que no se indujo el

crecimiento del tallo y las plantas mantuvieron su forma de roseta, ya que, en trabajos como el de Lang, (1956) y Zeevaart *et al.* (1993) se ha visto que con la aplicación exógena de giberelina, las plantas en forma de roseta pueden superar el bloqueo fisiológico de un tamaño reducido y aumentar el tamaño de su tallo, lo que modifica su forma original.

En su ambiente natural (Carolina del norte), las plantas de *D. muscipula* de aproximadamente un año de edad presentan entre 5 y 6 hojas (Luken, 2005) y cuando son adultas nunca tienen más de 7 hojas (Botanical Society of America, 2019), por lo que es interesante observar que, desde el inicio del presente experimento, las plantas utilizadas presentan más hojas (de 10 a 14 hojas por planta, aproximadamente) de las que se menciona en la literatura (Gráf. 3), lo cual puede deberse a que provienen de cultivo en invernadero, donde crecen protegidas de los riesgos que implica la naturaleza y pueden generar más hojas, ya que Ayán Álvarez (2016) indica que las plantas adultas de *D. muscipula*, cultivadas en invernadero cuentan con alrededor de 10 hojas.

También es importante señalar que, aunque durante el transcurso del experimento, se pudo observar que algunas hojas se marchitaron y descompusieron, en todos los tratamientos se desarrollaron hojas nuevas, por lo que su número se incrementó desde los datos obtenidos durante la 5ª semana y hasta el final del experimento (semana 10, ver Gráfs. 4), llegando a tener, en promedio 18.2 ± 3.1 hojas las plantas chicas y 19.4 ± 4.3 hojas, las plantas grandes. Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos, por lo que no se puede afirmar un efecto favorable del ác. giberélico sobre el incremento del número de hojas que se observa en las plantas pequeñas (Gráf. 5). Pero, como Back & Richmond (1971) mencionan, la giberelina tiende a retardar la senescencia de las hojas, éste sería una respuesta a analizar con más detenimiento en futuros trabajos de investigación al respecto.

Un aspecto interesante que se pudo observar, aunque no estaba dentro de las respuestas esperadas, fue la formación de brotes de crecimiento en el tratamiento 120 mg.L^{-1} de ac. giberélico en las plantas chicas y una mayor cantidad de éstos (hasta dos veces más que el control) en las plantas grandes con tratamiento de giberelina (Tabla 1). Lo cual se debe a una respuesta de las plantas al efecto de la giberelina sobre las yemas de crecimiento, lo cual coincide con lo descubierto por Zieslin y Geller 1993, la aplicación de giberelina induce la producción de brotes, incluso en plantas que se encuentran en estado de dormancia, lo cual es el caso de las plantas del experimento.

Según como se ha descrito en la literatura (Lloyd, 1976), las hojas de *D. muscipula* consisten de dos regiones, la parte basal, correspondiente al peciolo y que es más parecida a una hoja por las extensiones laterales de la lámina y la parte correspondiente a la trampa, en la cual, la lámina se extiende en dos “lóbulos” en forma trapezoide y terminan en extensiones puntiagudas que semejan cilios o “dientes”, los cuales evitan que las presas escapen cuando la trampa se cierra. En su ambiente natural (Carolina del norte), se ha encontrado que, en plantas de aproximadamente un año, la longitud de las hojas varía entre los 1.9 y 2.4 cm (Luken, 2005), valores que podrían considerarse superiores a las medidas de las plantas aquí utilizadas (Gráf. 6), en las cuales, el promedio inicial fue de 1.39 ± 0.15 cm para las plantas de un año (chicas) y 1.68 ± 0.19 cm para las plantas de año y medio (grandes). Sin embargo, en el trabajo citado no se menciona si consideran todo el largo de la hoja, incluyendo la trampa o sólo el peciolo, como en la presente investigación.

La aplicación de giberelina incrementó significativamente la longitud de las hojas de *D. muscipula* (Gráf. 6). Aunque en todos los tratamientos correspondientes a las plantas chicas se observa un aumento en la longitud de las hojas, es en los tratamientos donde se aplicó el ác. giberélico en concentraciones de 30 y 60 mg.L^{-1} , donde el cambio fue significativo. Por otro lado, en el tratamiento control de las plantas grande, la longitud de las hojas disminuyó, mientras que en todos los tratamientos donde se aplicó el ác. giberélico hubo un aumento en la longitud de las hojas, mismo que fue estadísticamente significativo en los tratamientos con concentración de 60 y 120 mg.L^{-1} , lo cual está relacionado con los efectos de la giberelina, ya que ésta tiende a aumentar la expansión de las hojas (Biemelt *et al.*, 2004).

Aún cuando la aplicación de ác. giberélico no mostró un efecto respecto al ancho de las hojas (peciolos), ya que no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (Gráf. 7), cabe mencionar que normalmente las plantas de *D. muscipula* son perenes y que durante la primavera desarrollan hojas más largas que durante el invierno, época en la que se desarrollan peciolos más anchos y cortos, debido a los cambios estacionales de luz y disponibilidad de presas (Luken, 2007). Por lo que, debido al periodo en que se realizó el experimento (de septiembre a noviembre de 2018), se esperaría que las hojas mostraran éstos cambios (peciolos más anchos) e incluso, nulo o poco crecimiento (Hewitt, 2016).; lo cual no se presentó ni en los tratamientos control, por lo que sería interesante probar, en futuras investigaciones, si las condiciones ambientales

(temperatura superior a los 15 °C, humedad constante superior al 70% y luz de día) pudieron influir para evitar esos cambios estacionales.

Por otro lado, también se ha visto que el aumento en el tamaño de la trampa implica la elongación del peciolo y la disminución su ancho (Luken, 2007), por lo que los resultados encontrados en el crecimiento de las trampas también podrían estar relacionados con los cambios encontrados en la longitud de las hojas; ya que, a pesar de que el aumento que se observa en el largo de las trampas en algunos de los tratamientos (Gráf. 8) no fueron estadísticamente significativos, sí lo fueron respecto al ancho de las mismas. Como se puede observar en la gráfica 9, tanto en las plantas chicas como en las grandes, la aplicación de giberelina promueve el incremento en el ancho de las trampas de *D. muscipula*, ya que, en ambos casos las respuestas fueron superiores a las del control. Sin embargo, las respuestas estadísticamente significativas se encontraron en el tratamiento de 30 mg.L⁻¹ de ác. giberélico, en plantas chicas y en los tratamientos de 30 y 60 mg.L⁻¹ en las plantas grandes.

El efecto significativo sobre el aumento en la longitud de las hojas y el ancho de las trampas, pudiera estar relacionado con la disposición longitudinal de las células en las hojas de *D. muscipula* (Stanescu *et al.*, 2008), ya que en el peciolo se distribuyen a lo largo del mismo, pero en las trampas, la disposición longitudinal de las células es en forma transversal, para formar las extensiones marginales en forma de espinas, mismas que se forman en trampas cuya longitud es de 4 mm o más, ya que les permite atrapar presas de 5 a 30 mm (Lloyd, 1976).

Es importante recordar que las hojas de *D. muscipula* son fotosintéticas como todas las plantas, por lo que en algunos estudios (como con *Utricularia inflexa*), se ha demostrado que para que la planta alcance su madurez, no hay una diferencia significativa entre atrapar insectos o no (Lazcano Villarreal, 2014), por lo que se considera que la falta de presas durante el desarrollo del presente experimento, no afectó el crecimiento de las plantas utilizadas, ya que se ha encontrado que es a través de las raíces es como las plantas carnívoras absorben la mayor cantidad de nutrientes y la absorción a través de las hojas es un complemento (Ademac, 2002).

En *D. muscipula* se ha demostrado que las raíces son débiles, se encuentran reducidas, pero carnosas (Adlassing, *et al.*, 2005) y además de servir como sistema de anclaje, también son funcionales en la absorción de nutrientes e incluso, como órganos de

almacenamiento (Schulze *et al.*, 2001), por lo que en todos los tratamientos utilizados, se presentó un crecimiento radicular significativo durante la primera fase del experimento (5 semanas); pero debido a que las diferencias al final del experimento no resultaron significativas entre los tratamientos (Gráf. 10), no se pudo encontrar un efecto de la aplicación exógena de giberelinas, aunado al hecho de que en *Arabidopsis*, sp. por ejemplo, se ha visto que el crecimiento radicular requiere de la interacción endógena entre auxinas y giberelinas (Ubeda-Tomás *et al.*, 2008), a pesar del hecho de que *D. muscipula* incluso en un sustrato rico, sin presas animales (el caso del experimento) no produce raíces (Adlassing, *et al.*, 2005), evento que se observó durante las primeras cinco semanas del experimento.

En el presente experimento se encontró un incremento significativo en el peso fresco de las plantas, desde las cinco semanas de tratamiento (Gráf. 11); sin embargo, cabe señalar que, debido a que las respuestas mostraron la misma tendencia en el tratamiento control, no se encontraron diferencias significativas en la aplicación de giberelina; sin embargo, con los resultados del índice de crecimiento (Gráf. 12), se observa que, las plantas chicas presentaron significativamente un mayor índice de crecimiento (51.213 ± 7.5 %) que las plantas grandes (47.9914 ± 12.9 %). Lo cual está relacionado, por un lado, con la rapidez de crecimiento que de manera natural presentan las plantas pequeñas (Luken, 2005 y 2007) y por otro, con la mayor cantidad de brotes que se encontró en las plantas grandes (Tabla 1), ya que de acuerdo con Karagatzides & Ellison (2009), el crecimiento de las trampas en plantas carnívoras, representa un bajo costo para la planta, además de que puede translocar nutrientes de otras trampas, pero el incremento en la biomasa corresponde principalmente a la suma de las hojas, lo cual implica cerca del 30% de la energía de la planta (Schulze *et al.*, 2001).

Respecto al peso fresco en las plantas chicas, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (Gráf. 12); en cambio, en las plantas grandes, la aplicación de giberelina en las diferentes concentraciones utilizadas, reduce significativamente, desde un 10 %, en el tratamiento de 120 mg.L^{-1} de giberelina, hasta en un 40% en la concentración de 30 mg.L^{-1} . Sin embargo, al calcular la relación PF/PS, respecto a los resultados señalados en la Tabla 2 (en los que no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos) se encontró que en los tratamientos con aplicación de giberelina, ésta relación es significativamente menor, tanto en las plantas chicas como grandes (Gráf. 13), lo que implica que con la aplicación de las diferentes concentraciones de giberelina,

se presenta un incremento relativo respecto al peso seco total de la planta (Brouwer, 1962).

En cuanto a los valores de fluorescencia (Gráf. 14), se observa que en el tratamiento de 60 mg.L⁻¹ de giberelina, es donde hubo una disminución significativa en este valor, lo cual puede estar relacionado con que fue el tratamiento donde se presentó un menor incremento en el número de hojas (Gráf. 5) y de relación PF/PS (Gráf. 13), que según lo dicho por Biemelt *et al.* (2004) y Huerta *et al.* (2008), contribuiría a una disminución en la absorción del CO₂ por parte de la planta, afectando su actividad fotosintética; al comparar los valores obtenidos de la actividad fotosintética operacional que oscilan entre 0.54 - 0.635 contra los valores comúnmente presentados en plantas vasculares y algas verdes saludables aproximados a 0.8 – 0.83 (Sanclemente *et al.* 2008), que concuerda con la baja actividad fotosintética que presentan las plantas carnívoras.

VII. Conclusiones.

Con los resultados obtenidos en la presente investigación y respecto a los objetivos planteados, se puede concluir que:

- Se brindan por primera vez datos sobre la respuesta de *Dionaea muscipula* Ellis, a la aplicación exógena de la fitohormona (GA_3).
- Debido a las características naturales de crecimiento de las plantas de *D. muscipula*, existe un crecimiento diferenciado entre plantas chicas y grandes, por lo que el efecto de la aplicación exógena de Ác. giberélico, también resultó diferente.
- Tanto en plantas chicas como en plantas grandes, debido a la disposición longitudinal de las células en las hojas, la giberelina incrementa significativamente la longitud del peciolo de las hojas y el ancho de las trampas.
- Con la aplicación exógena de giberelina en plantas de *D. muscipula*, se promueve la formación de brotes de crecimiento; en las plantas chicas con la aplicación de 120 mg.L^{-1} de ác. giberélico y en plantas grandes con la aplicación de concentraciones desde 30 mg.L^{-1} de Ác. giberélico.
- Aunque no se encontró un efecto significativo de la aplicación exógena de giberelina en el incremento del número de hojas, sí se encontró que, a partir de la aplicación de concentraciones de 30 mg.L^{-1} de Ác. giberélico, se incrementa la producción de materia seca en las plantas.
- La actividad fotosintética se ve afectada, más por el número de hojas y la biomasa de las plantas de *D. muscipula*, que por el efecto de la giberelina.
- Se recomienda hacer más estudios que ayuden a conocer el efecto de los factores ambientales en los ciclos de crecimiento de la especie y el efecto de la actividad de las giberelinas en la senescencia de las hojas y el crecimiento radicular.

VIII. Bibliografía.

- Adamec L. 1997. Mineral Nutrition of Carnivorous Plants: A Review. *The Botanical Review* 63(3): 273-299
- Adamec L. 2002. Leaf absorption of mineral nutrients in carnivorous plants stimulates root nutrient uptake. *New Phytologist* 155: 89-100
- Adlassing W., Peroutka M, Lambers H. y Lichtscheidl I. K. 2005. The roots of carnivorous plants. *Plant and soil* 274: 127-140.
- Ayán Álvarez, A. 2016. Uso de plantas carnívoras en la docencia de disciplinas científicas. Memoria del Trabajo de Fin de Grado. Universidade da Coruña. Facultad de Ciencias. Consultado 28 de agosto de 2017: <http://ruc.udc.es/dspace/handle/2183/17320>
- Babula P., Mikelova R., Adam V., Kizek R., Havel L. y Sladky Z. 2006. Using of liquid chromatography coupled with diode array detector for determination of naphthoquinones in plants and for investigation of influence of pH of medium on content of plumbagin in *Dionaea muscipula*. *Journal of Chromatography B* 842: 28-35.
- Back, A. & Richmond A. E., 1971. Interrelations between Gibberellic Acid, Cytokinins and Abscisic Acid in Retarding Leaf Senescence. *Physiologia Plantarum*. 24(1): 523-534.
- Banasiuk, R.; Kawiak, A.; Królicka, A. 2012. In vitro cultures of carnivorous plants from the *Drosera* and *Dionaea* genus for the production of biologically active secondary metabolites. *BioTechnologia* 93(2): 87-96
- Beebe, J. 1980. Morphogenetic Responses of Seedlings and Adventitious Buds of the Carnivorous Plant *Dionaea muscipula* in Aseptic Culture. *Botanical Gazette* 141(4): 396-400.
- Biemelt S., Tschiersch H. y Sonnewald U. 2004. Impact of Altered Giberellin Metabolismo on Biomass Accumulation, Lignin Biosynthesis, and Photosynthesis in Transgenic Tobacco Plants. 2004. *Plant physiology* 139: 254-265.
- Botanical Society of America, 2019. *Dionaea muscipula* - The Venus Flytrap. https://www.botany.org/Carnivorous_Plants/venus_flytrap.php consultado el 15 de febrero de 2019.
- Brouwer, R. 1962. Nutritive influences on the distribution of dry matter in the plant. *Neth. J. agric.Sei.* 10(5): 399-408.

- Coles, J. P.; Phillips, A. L.; Croker, S.J.; García-Lepe, R.†; Lewis, M.J. and Hedden, P. 1999. Modification of gibberellin production and plant development in *Arabidopsis* by sense and antisense expression of gibberellin 20-oxidase genes. *The Plant Journal*. 17(5): 547–556
- Ellison A. M. 2006. Nutrient Limitation and Stoichiometry of Carnivorous Plants. *Plant Biol*. 8: 740-747.
- Ellison; A. M. and Gotelli N. J. 2009. Energetics and the evolution of carnivorous plants—Darwin’s ‘most wonderful plants in the world’. *Journal of Experimental Botany* 60(1):19–42.
- Escudero Melo, Y. E. 2016. Efecto del acigigib sobre el agrietamiento y la calidad del fruto de la granada roja cv. Apaseo tardía (*Punica granatum*). Tesis de licenciatura. F.E.S.I. U.N.A.M.
- Gi-Wong J., Kwang-Soo k. y Ro-Dong P. 2003. Micropropagation of venus fly trap by shoot culture. *Plant Cell, Tissue and Organ culture* 72: 95-98.
- Gibson T. C. y Waller D. M. 2009. Evolving Darwin’s “most wonderful” plant: ecological steps to snap-trap. *New Phytologist* 183: 575-587
- González M. L., Caycedo C., Velásquez M. F., Flórez V. y Garzón M. R. 2007. Efecto de la aplicación del ácido giberélico sobre el crecimiento de coliflor (*Brassica oleraceae* L.) var. Botrytis DC. *Agronomía colombiana* 25(1), 54-61
- González M. S., Perales V. H. Salcedo A. M. O. 2008. La florescencia de la clorofila *a* como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. *Revista de Educación Bioquímica* 27(4): 119-129.
- Hájek T. y Adamec L. 2010. Photosynthesis and dark respiration of leaves of terrestrial carnivorous plants. *Biologia* 65: 69-74
- Hewitt C. N. 2016. Carnivorous Plants: Gardening with extraordinary botanicals. Portland, Oregon. Timber Press. 103 p.
- Hook I. L. I. 2001. Naphthoquinone contents of *in vitro* cultured plants and cells suspensions of *Dionaea muscipula* and *Drosera* species. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 67: 281-285.
- Huerta L., Forment J., Gadea J., Fagoaga C., Peña L., Pérez A. M. A. y García M. J. L. 2008. Gene expression analysis in citrus reveals the role of gibberellins on photosynthesis and stress. *Plant, Cell and Enviroment* (31): 1620-1633
- Hutchinson J. F. 1983. In vitro propagation of *Dionaea muscipula* Ellis (Venus fly trap). *Scientia Horticulture* 22: 189-194.

- Jang, G.; Kim, K.; Park, R. 2003. Micropropagation of Venus fly trap by shoot culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 72(1): 95–98.
- Jordán M. y Casaretto J. 2006. Capítulo XV Hormonas y Reguladores del Crecimiento: Auxinas, Giberelinas y Citocininas. (F.A. Squeo y L. Cardemis, eds.). En Fisiología Vegetal. Ediciones Universidad de la Serena, la Serena, Chile. 1-28.
- Karagatzides, J. D. & Ellison, A. M. 2009. Construction costs, payback times, and the leaf economics of carnivorous plants. *American Journal of Botany* 96(9):1612–1619.
- Lang, A. (1956). Stem elongation in a rosette plant, induced by gibberellic acid. *Die Naturwissenschaften*, 43(11), 257–258. doi:10.1007/bf00617601
- Lazcano Villarreal, D. 2014. Las plantas Carnívoras: Un Hobby. *Planta* 9(18): 22-27.
- Libiaková M., Floková K., Novák O., Slovákova L. y Pavlovič. 2014. Abundance of Cysteine Endopeptidase Dionain in Digestive Fluid of Venus Flytrap (*Dionaea muscipula* Ellis) Is regulated by Different Stimuli from Prey through Jasmonates. *Plos One* 9(8): 1-12.
- Luken J. O. 2005. *Dionaea muscipula* (Venus Flytrap) Establishment, Release, and Response of Associated Species in Mowed Patches on the Rims of Carolina Bays. *Restoration Ecology* 13(4): 678–684.
- Luken, J. O. 2007. Performance of *Dionaea muscipula* as influenced by developing vegetation. *Journal of the Torrey Botanical Society* 134(1): 45–52.
- Lloyd, F. E. 1976. The Carnivorous Plants. Dover Publications, INC. U.S.A. 352 pp.
- Markin, V.S.; Volkov, A. G.; Jovanov, E. 2008. Active movements in plants. Mechanism of trap closure by *Dionaea muscipula* Ellis. *Plant Signaling & Behavior*. 3(10): 778-783.
- Martel, J. I. 2019. Plantas Carnívoras. <http://plantascarnivorasweb.com/dionaea.php> Consultado el 20 de febrero de 2019.
- Mendoza, V. R.; Hernández, F. A.; Ramírez, R. H.; Molina, A. G. S. y Quezada, M. M. R. 2009. Comparación de la aplicación de giberelinas y la inoculación de *Azospirillum* sp en el crecimiento de plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). *Sociedad Mexicana de Agricultura sostenible A.C.* Galdámez, G. J., Guevara, H.

- F., soto. P. L., López, M. J. y Vázquez, G. M. (Comp.). Vol. 6. ISBN: 978-607-8003-17-4.
- Ortega-Martínez L. D., Ocampo M. J., Martínez V., Pérez S. A. y Sánchez O J. 2013. Efecto de las giberelinas sobre el crecimiento y calidad de plántulas de tomate. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*. XV (3): 56-60.
 - Pakulski, G. and Budzianowski, J. 1996. Ellagic acid derivatives and naphthoquinones of *Dionaea muscipula* from in vitro cultures. *Phytochemistry*. Volume 41(3):775-778.
 - Pavlovic, A.; Demko, V.; Huda'k, J. 2017. Response of *Dionaea muscipula* J. Ellis to light stress in in vitro: physiological study. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 134: 65–77
 - Rice B., 2002. Carnivorous plants – classic perspectives and new research. *Biologist* 49 (6):1-5.
 - Richards D. E., King K. E., Ait-ali T. y Hardberd N. P. 2001. How Gibberellin Regulates Plant Growth and Development: A Molecular Genetic Analysis of Gibberellin Signaling. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52:67–88 .
 - Roberts P. R. y Oosting H. J. 1958. Responses of Venus Fly Trap (*Dionaea muscipula*) to Factors Involved in its Endemism. *Ecological Monographs* Vol. 28 No. 3.
 - Rozo Ávila, M.G. 2017. Diagnóstico del proceso de ventas de las plantas carnívoras – venus atrapamoscas – realizado en el vivero La Palma. Trabajo de grado para obtener el título en Administración de Empresas. Universidad Santo Tomas De Aquino. Bogotá, Colombia. 84 pp.
 - Salisbury, F. B. y Ross, C.W. 1992. Fisiología Vegetal. México. Grupo Editorial Iberoamericana. 759 pp.
 - Sanclemente, M. A. y Peña, E. J. 2008. Crecimiento y eficiencia fotosintética de *Ludwigia decurrens* Walter (ONAGRACEAE) bajo diferentes concentraciones de nitrógeno. *Acta biol. Colomb.*, Vol. 13 No. 1, 175-186.
 - Schulze W., Schulze E. D., Schulze I. and Oren R. 2001 Quantification of insect nitrogen utilization by the venus fly trap *Dionaea muscipula* catching prey with highly variable isotope signatures. *J. Exp. Bot.* 52, 1041–1049.
 - Stanescu, I.; Toma, C. & Gostin, I. 2008. Cyto-histological aspects in the modified leaf of *Dionaea muscipula* Ellis. *Plant Biol.* 53(1): 3-10.

- Tokarz, K.; Makowski, W.; Banasiuk, R.; Krolicka, A & Piwowarczyk, B. 2018. Response of *Dionaea muscipula* J. Ellis to light stress in in vitro: physiological study. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 134:65–77.
- Ubeda-Tomás, S.; Swarup, R.; Coates, J.; Swarup, K.; Laplaze, L.; Beemster, J. T. S.; Hedden, P.; Bhalerao, R. & Bennett, M. 2008. Root growth in *Arabidopsis* requires gibberellin/DELLA signalling in the endodermis. *Nature Cell Biology*. 10(5): 625-628.
- Zeevaart J. A. D., Gage D. A. & Talon M. 1993. Gibberellin A1 is required for stem elongation in spinach. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol 90, pp. 7401-7405
- Zieslin N. y Geller Z. 1993. Studies with *Liatris spicata* Willd. 1. Effect of temperatura on sprouting, flowering and Giberellin content. *Annals of Botany*, 52(6), 849-853