

73

241



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

campus IZTACALA



**"ORGANIZACIÓN DEL MERISTEMO APICAL DE RAÍZ PRIMARIA  
CON CRECIMIENTO DETERMINADO EN *Stenocereus gummosus*  
(CACTACEAE) Y SU POSIBLE IMPORTANCIA ADAPTATIVA EN  
CONDICIONES ÁRIDAS"**

Tesis de licenciatura que  
para obtener el título de  
**B I Ó L O G A**  
p r e s e n t a:

Gabriela Mendoza Carrión

Febrero de 1998.

**TESTIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

260566



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES IZTACALA  
JEFATURA DE LA CARRERA DE BIOLOGIA

Los Reyes Iztacala, a 14 de Enero de 1998.

APROBACION DE TESIS

LIC. AMERICA LANDA ROMERO  
JEFE DE LA UNIDAD  
DE ADMINISTRACION ESCOLAR.  
P R E S E N T E .

Por medio de la presente manifestamos a Ud. que como Miembros de la Comisión Dictaminadora del trabajo de Tesis del Pasante de Biología:

GABRIELA MENDOZA CARRION

titulado:

"Organización del meristemo apical de raíz primaria con crecimiento determinado en *Stenocereus gummosus* (Cactaceae) y su posible importancia adaptativa en condiciones áridas"

para obtener el grado de Licenciatura, después de haber sido cuidadosamente revisado y realizadas las correcciones que se consideraron pertinentes, declaramos nuestra aprobación del trabajo escrito, ya que reúne las características, calidad y decoro académico del título al que aspira.

A t e n t a m e n t e  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

BIOL. JOSE ANTONIO MEYRAN CAMACHO

BIOL. SILVIA AGUILAR RODRIGUEZ

BIOL. DANIEL TEJERO DIEZ

BIOL. MANUEL MANDUJANO PIÑA

DR. JOSEPH DUBROVSKY

(Nombre completo)

(Firma)

**A Feli y Alfredo  
por su amor, apoyo y confianza**

**A Bibiana, Heidi, Jessi, Andy y Ale  
por su alegría**

**A Roberto  
porque también es su logro**

**A la memoria de Beto...**

Si lo escucho, lo recuerdo;  
si lo veo, lo memorizo;  
si lo escucho, lo veo y lo hago;  
jamás lo olvido.  
Proverbio chino.

## AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Biología del Desarrollo de Plantas, del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C., La Paz, Baja California Sur, bajo la dirección del Dr. Joseph Dubrovsky. Al Dr. Dubrovsky mi admiración, y gratitud por sus enseñanzas y ayuda para terminar esta tesis. A todos los que forman parte del CIBNOR agradezco su apoyo y trato amable. Muchas personas han aportado algo a esta tesis. Entre ellas mis eternas gratitudes:

A Miriam por sus amistosos gritos de silencio, por sus consejos y orientación, por revisar cuidadosamente el escrito, sin olvidar que me sacó de tremendos baches en su redacción.

A Naty por su amabilidad de recibir los borradores y realizar trámites en mi representación, a Dano porque probablemente la acompañó.

A Alonso por mantenerme informada desde smognópolis y por su apoyo computacional.

A Darla por ser una simpática compañera de trabajo nocturno, por leer la tesis y corregir varios detalles.

A Adriana por ayudarme a corregir los gráficos y por organizar agradables ratos de convivencia.

A Pati por hospedarme en su laboratorio siempre que no tolere el congelador, por escuchar mis quejas, por su disponibilidad de auxilio.

A Liana y a Jazmín porque los días en el el laboratorio fueron más alegres con su compañía.

A Carlos Ruy por confiarme su computadora, por su charla interesante y sus consejos.

A Tere, el Bongo, Ale, Isa y los otros Nerds por su apoyo en el exilio.

A mi familia por quererme a pesar de la lejanía, por su apoyo en todos los aspectos. En especial a papá por su ejemplo y por siempre encaminarme en la vereda del conocimiento.

A Beti con un reconocimiento a su don de dar sabor a la vida, por sus enseñanzas, consejos y entusiasmo, por ser como una madre. También a su familia Ayesha y Fran por acogerme cálidamente.

A Kaoru por conseguirme asesor, por sacarme de apuros, porque a pesar de estar al otro lado del mundo seguimos siendo buenas amigas.

A Roberto, mi amado bigotón, por compartir conmigo su filosofía, por sus porras, sus regaños, sus apapachos, por las noches en vela, por aguantar las crisis, por leer la tesis y hacerle correcciones acertadas, por hacerse cargo de imprimirla, por que sin él no hubiera terminado.

A la familia Rubio Morales por hospedarme y cuidarme como una hija durante mis últimos semestres en la carrera.

A los maestros que me han guiado en mi formación académica por sus enseñanzas.

A mis compañeros y amigos por su solidaridad y simpatía.

A la Tierra de la Soledad por su encantador contraste desierto-mar lleno de inspiración.

Una vez más a todos ellos y los que faltaron ¡MIL GRACIAS!

Gabriela Mendoza Carrión.

# CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
ANTECEDENTES.....	6
1. Meristemo apical de la raíz.....	6
2. Crecimiento: indeterminado y determinado.....	6
3. Cactaceae: Importancia económica y ecológica.....	8
3.1. Estudios sobre el crecimiento determinado en Cactáceas.....	9
3.2. Historia natural de <i>Stenocereus gummosus</i> .....	10
OBJETIVOS.....	12
MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
1. Descripción de <i>Stenocereus gummosus</i> .....	13
2. Patrón de crecimiento de la raíz primaria de <i>S. gummosus</i> .....	13
2.1. Obtención de las semillas.....	14
2.2. Germinación de las semillas.....	14
2.3. Crecimiento de la raíz primaria.....	15
3. Actividad meristemática de la raíz primaria de <i>S. gummosus</i> .....	16
3.1. Cortes en micrótopo, procesamiento de las raíces.....	16
3.1.1. Inclusión de las raíces en Cera de Steedman.....	17
3.1.2. Inclusión en Historesina.....	18
3.1.3. Montaje.....	19
3.1.4. Tinción de los cortes en micrótopo.....	19
3.2. Cortes manuales de raíces vivas.....	20
3.2.1. Tinción de los cortes manuales.....	21
3.3. Parámetros de la actividad meristemática.....	22
4. Estructura del meristemo apical de la raíz primaria de <i>S. gummosus</i> .....	23
5. Correlación entre la pérdida de la actividad meristemática y la formación de las raíces laterales.....	24
RESULTADOS.....	25
1. Patrón de crecimiento de la raíz primaria de <i>S. gummosus</i> .....	25
2. Actividad meristemática en la raíz primaria de <i>S. gummosus</i> .....	26
3. Estructura del meristemo apical de la raíz primaria de <i>S. gummosus</i> .....	31
3.1. Organización del meristemo apical 12 h DSR.....	32
3.2. Organización del meristemo apical 48 h DSR.....	34
4. Correlación entre la pérdida de la actividad meristemática y la formación de las raíces laterales.....	37

<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>39</b>
<b>1. Crecimiento determinado de la raíz primaria de <i>S. gummosus</i>.....</b>	<b>39</b>
<b>2. Características generales del meristemo y de la dinámica de la actividad meristemática de la raíz primaria de <i>S. gummosus</i>.....</b>	<b>39</b>
<b>3. Organización del meristemo apical de la raíz primaria de <i>S. gummosus</i>.....</b>	<b>44</b>
<b>4. Correlación entre el crecimiento determinado y la formación de raíces laterales.....</b>	<b>47</b>
<b>5. Importancia ecológica del crecimiento determinado de la raíz primaria de <i>S. gummosus</i>.....</b>	<b>48</b>
 <b>CONCLUSIONES.....</b>	 <b>51</b>
 <b>REFERENCIAS.....</b>	 <b>52</b>

## RESUMEN

*Stenocereus gummosus* (Engelmann) Gibson y Horak, es una cactácea codominante, ampliamente distribuida en el Desierto Sonorense y cuenta con un importante potencial económico. El crecimiento de su raíz primaria es determinado y se caracteriza por el agotamiento programado del meristemo como ha sido demostrado en estudios anteriores, en los que se han realizado experimentos únicamente bajo condiciones de temperatura constante (29 °C). En este trabajo se estudiaron: las bases celulares del crecimiento determinado, la dinámica del agotamiento del meristemo, la organización del meristemo apical de la raíz y el posible significado ecológico del crecimiento determinado, en plántulas germinadas bajo tres regímenes de temperatura (dos temperaturas constantes: 22 y 29 °C y una temperatura variable: 30 °C, durante el día y 25 °C en la noche) y sobre dos sustratos diferentes (mezcla de suelo y papel filtro). Se realizaron cortes histológicos en micrótopo y a mano de raíces vivas. El patrón de crecimiento fue el mismo en todas las condiciones probadas. Las raíces crecieron linealmente con una tasa de crecimiento constante de 24 a 48 h Después del Surgimiento de la Radícula (DSR). Tras este período, el crecimiento finalizó y las células epidérmicas que terminaron su actividad proliferativa comenzaron su elongación y la producción de pelos radicales hasta cubrir la punta de la raíz. Durante el corto período de crecimiento estacionario, se observaron 15 células meristemáticas en la epidermis, esto indica que el tamaño del meristemo es relativamente pequeño. Transcurridas 80 h DSR, el número de células en el meristemo decreció hasta cero. La dinámica del agotamiento del meristemo tuvo un comportamiento dependiente de la temperatura, el período de crecimiento es mayor con una temperatura promedio menor (22°C). Con base en un análisis de regresión lineal, todos los procesos de crecimiento finalizaron hasta 115 h DSR bajo condiciones de temperatura variable. La organización del meristemo apical de la raíz de *S. gummosus* 12 h DSR, presenta una estructura cerrada con pocas células iniciales. Posteriormente (48 h DSR), esta estructura cambió a abierta, indicando alguna actividad del promeristemo (incluyendo células iniciales). Sin embargo, su proliferación fue limitada y aparentemente sólo se presentó un ciclo celular de 12 a 48 h DSR. El crecimiento de la raíz y su meristemo no pudieron mantenerse como en otras especies con un patrón de crecimiento indeterminado. Del análisis gráfico se dedujo que durante el crecimiento de la raíz ocurren únicamente 3 ciclos celulares. Este trabajo corrobora la existencia de una correlación entre el agotamiento del meristemo y el inicio de la formación de primordios de raíces laterales. En todas las plántulas de *S. gummosus* observadas y en las de otras dos especies con el mismo patrón de crecimiento (*Ferocactus peninsulæ* y *Stenocereus thurberi*) las raíces laterales se desarrollaron únicamente después de que se detectó el agotamiento del meristemo. El crecimiento determinado funciona como un mecanismo para la rápida formación del sistema de raíz y el establecimiento de plántulas en los períodos, relativamente cortos, de condiciones ambientales óptimas para el crecimiento en el desierto. Este desarrollo programado es estable e irreversible, independiente de las condiciones experimentales y se expresó durante la ontogenia temprana de la planta. Por lo tanto es posible que el crecimiento determinado en las especies estudiadas pudo seleccionarse durante su historia natural como una respuesta a las condiciones climáticas de los ambientes áridos.



## ABSTRACT

*Stenocereus gummosus* (Engelmann) Gibson & Horak is a codominant and widely distributed species in the Sonoran Desert, and has potential economic importance. The primary root of the seedling is characterized by determinate growth because the meristem is programmed to be exhausted, as was previously demonstrated in other studies under conditions of constant temperature (29 °C). In the present work, the cellular bases of this growth pattern, the dynamics of meristem exhaustion, the organization of the root apical meristem, and the possible ecological significance of this type of growth were studied in plants growing under three temperature regimens (constant temperatures, 22 and 29 °C and variable temperature, 30 °C during the day and 25 °C at night) and under two substrate conditions (a soil mixture and on filter paper). Histological sections were made by microtome and by hand of live roots. The growth pattern was the same under all conditions studied. Roots grew linearly with constant growth rate during 24 to 48 h After the Start of Radicle Protrusion (ASRP). After this period, growth was completed and the cells without meristematic activity started to elongate and produce root hairs covering roots to the very tip. During the relatively short steady-state-growth period, the number of meristematic cells was maintained at the same level and was equal to 15, indicating a relatively small meristem size. Later, and up to 80 h, the number of cells in the meristem decreased to zero. The dynamics of meristem exhaustion had a temperature-dependent character; the growth period was longer at lower temperatures. Theoretically, based on regression analysis, all growth processes were completed at 115 h ASRP under variable temperature. The apical meristem of the primary root, 12 h ASRP, had a typical closed structure with few initial cells found. Later (48 h ASRP), this structure was changed to an open structure indicating some activity of promeristem (initial cells). This proliferation was however, limited, and apparently only one cell division cycle was permitted. This explained why meristem and root growth could not be maintained as in species with an indeterminate pattern of growth. It was deduced only 3 cell division cycles within the meristem could occur during growth of the root. This study confirmed a previously drawn conclusion on the correlation between meristem exhaustion and initiation of lateral-root primordia formation. In all cases in *S. gummosus* and in two other species with the same root growth pattern (*Ferocactus peninsulae* and *Stenocereus thurberi*), lateral roots were formed only after meristem exhaustion was complete. It was concluded the determinate pattern of growth in the species studied was elaborated during the natural history of the species as a response to drastic desert environments and served as a mechanism for rapid root-system formation and successful seedling establishment within the relatively short optimal period in the desert. This development program is stable and irreversible independent of experimental conditions and expressed during early ontogenesis of the plant.

## INTRODUCCIÓN

El crecimiento es el incremento progresivo e irreversible en el tamaño de un órgano o un organismo, generado por dos procesos: división celular y elongación de las células (Green, 1976; Ivanov, 1981, 1994; Steeves y Sussex, 1991). El crecimiento en las plantas puede presentar dos comportamientos diferentes: a) indeterminado, cuando existe una producción continua de células, característico de tallos y raíces (Fosket, 1994; Salisbury y Ross, 1994) y b) determinado, cuando el crecimiento se bloquea de forma temporal -crecimiento determinado reversible, en respuesta a condiciones ambientales particulares- o permanente -crecimiento determinado irreversible, por la realización de un programa específico de desarrollo- (Dubrovsky, 1997a). El crecimiento indeterminado es el patrón más común presente en las raíces y se ha reportado para varias plantas agrícolas (Fosket, 1994). El crecimiento determinado reversible ha sido estudiado en *Pisum sativum*, inducido por un aumento de temperatura (Gladish y Rost, 1993). Algunos ejemplos del crecimiento determinado irreversible han sido observados en raíces de Pteridofitas (MacLeod, 1991; Fosket, 1994), en raíces laterales de maíz (Varney y McCully, 1991) y en *Opuntia arenaria* (Boke, 1979).

La raíz es un órgano principal que fija y sostiene a la planta, absorbe agua y minerales por diferentes mecanismos, sintetiza hormonas para el tallo y algunas veces sirve como órgano de reserva (Esau, 1985; Salisbury y Ross, 1994). La raíz está organizada en las siguientes regiones definidas: la caliptra, la zona meristemática, la zona de elongación y la zona de diferenciación o maduración (Esau, 1977; Ivanov, 1981; Rost, 1994). La caliptra tiene un desarrollo congruente con el meristemo apical, protegiéndolo durante el paso de la raíz a través del suelo (Esau, 1977; Fosket, 1994). La principal actividad de la zona meristemática es la división celular, dentro de esta zona se encuentra un centro quiescente con una

actividad proliferativa relativamente baja. En la zona de elongación las células finalizan su actividad proliferativa y pasan por un período de crecimiento a una velocidad relativamente alta. En la zona de diferenciación, las células adoptan una función definida, ya que han terminado su crecimiento. Esta zona se caracteriza externamente por la presencia de pelos radicales (Esau, 1977).

A pesar de que se conoce ampliamente sobre la fisiología de los tallos de las cactáceas, se ha dedicado poca atención al estudio de sus raíces sin tomar en cuenta que éstas facilitan la comprensión de las adaptaciones de la planta en un ambiente árido (Bravo-Hollis, 1978; Nobel, 1988). Las raíces de las cactáceas se desarrollan de manera que aseguran la absorción rápida y óptima del agua (Bravo-Hollis, 1978). Por lo general, éstas alcanzan pocos centímetros bajo la superficie; sin embargo, pueden extenderse lateralmente distancias considerables (Bravo-Hollis, 1978; Nobel, 1988). Además, ciertas especies almacenan agua en sus tejidos convirtiéndose en enormes raíces tuberosas (Bravo-Hollis, 1978). La profundidad que alcanzan y el grado de ramificación que adquieren las raíces de cactáceas, están en relación con la humedad y otras características del suelo (Bravo-Hollis, 1978). En estudios clásicos de plantas desérticas, se encontró que sus raíces son principalmente someras y delgadas, características importantes para la absorción de agua (Bravo-Hollis, 1978).

*Stenocereus gummosus* (Engelmann) Gibson y Horak, llamada comúnmente "pitaya agria", es una de las especies ampliamente distribuida y fisonómicamente dominante en las comunidades xerófitas de la Península de Baja California, en la región conocida como Desierto Sonorense (Shreve y Wiggins, 1964; León de la Luz y Domínguez-Cadena, 1991). El cultivo de esta planta y la comercialización de sus frutos resultan prometedores (León de la Luz y Domínguez-Cadena, 1991; León de la Luz, *et al.*, 1995). La raíz de *S. gummosus* tiene

un crecimiento y un desarrollo determinado (Dubrovsky, 1997b). En la raíz de esta cactácea, se observa un crecimiento determinado cuando disminuye su velocidad de crecimiento hasta que deja de crecer definitivamente, como se puede observar en una curva de crecimiento de tipo logístico. Se ha observado que las células meristemáticas se dividen sólo por un período limitado, después del cual se diferencian tejidos y se desarrollan las raíces laterales (Dubrovsky, 1997b). A pesar de esto, aún se desconoce el comportamiento de la planta en diferentes condiciones experimentales, así como la dinámica celular y el significado ecológico que implica el crecimiento determinado.

En este trabajo se analizó el crecimiento de la raíz primaria de *S. gummosus*. Estudios anteriores han mostrado que la finalización de su crecimiento está acompañada por la pérdida de actividad meristemática; además, la señalan como un modelo ideal para el estudio del crecimiento determinado (Dubrovsky, 1997a). Son diversas las preguntas que se plantean en torno a cómo la estructura del meristemo apical de la raíz primaria de *S. gummosus* está relacionada con el crecimiento determinado y las adaptaciones al medio árido en el que se desarrolla. Entre otras cuestiones, es importante precisar si el desarrollo determinado de la raíz primaria de *S. gummosus* es obligatorio o no, permanente o reversible y si el agotamiento del meristemo es un mecanismo esencial que da pauta al inicio de otros procesos, cuando la planta crece en diferentes condiciones ambientales. Además, es interesante conocer el papel del crecimiento determinado en el desarrollo de raíces laterales y su significado adaptativo para la planta. Otra de las preguntas cuya solución resulta indispensable, es si el meristemo de la raíz primaria de *S. gummosus* cuenta con células iniciales y cuál es su actividad. En este trabajo se plantean algunas estrategias para resolver las interrogantes expuestas.

## ANTECEDENTES

### 1. MERISTEMO APICAL DE LA RAÍZ

En las plantas vasculares, la capacidad de crecimiento continuo se encuentra asociada a los meristemos apicales, éstos funcionan para producir una expansión de la raíz o del tallo, a través de la formación continua de nuevas células mediante división celular y el mantenimiento de las células iniciales (Clowes, 1959; Steeves y Sussex, 1991; Peterson, 1992).

El meristemo apical de raíz, al igual que los otros meristemos, está constituido de células iniciales y sus derivadas proliferativas. El número de células iniciales varía de acuerdo a la especie y al estado de desarrollo (MacLeod, 1991). Los meristemos apicales de las raíces de Angiospermas y Gimnospermas son complejos, debido a que están compuestos de miles de células. Los meristemos complejos se dividen en tres partes distintas que interactúan entre sí: el meristemo proximal -cuyas células iniciales dan origen al estele y al córtex-, las células del centro quiescente y el meristemo distal -donde las células iniciales dan origen a la caliptra- (Gifford, 1983; MacLeod, 1991).

El meristemo apical de la raíz resulta un modelo conveniente y accesible, utilizado ampliamente para la observación del desarrollo y el crecimiento, la experimentación de procesos fisiológicos, así como la estimación del ciclo celular en plantas (Ivanov, 1981, 1994; Webster y MacLeod, 1980).

### 2. CRECIMIENTO: INDETERMINADO Y DETERMINADO.

El crecimiento involucra la producción de nuevas células y su alargamiento, procesos que están relacionados en tiempo y espacio (Steeves y Sussex, 1991; Ivanov, 1981). En diversos estudios de plantas vasculares se han observado dos patrones de crecimiento: a)

indeterminado, caracterizado por la producción continua de células, y b) determinado, si el crecimiento se bloquea de forma temporal o permanente.

El crecimiento indeterminado es usual en la mayoría de las Pteridofitas que presentan una sola célula inicial permanente. En las Angiospermas, los meristemas contienen varias células iniciales que se reemplazan constantemente cuando presentan un crecimiento indeterminado. Las plantas con este tipo de crecimiento tienen células iniciales persistentes (Fosket, 1994).

Las raíces, hojas, tallos, pétalos, estambres y muchos otros órganos de las plantas pueden manifestar un crecimiento determinado. Esto es, crecer hasta alguna talla máxima determinada genéticamente y entonces cesar su crecimiento. A pesar de que existe una variación considerable en el tamaño que puede alcanzar un órgano particular de una especie dada, existe un límite máximo que no es excedido (Fosket, 1994).

Los órganos con crecimiento determinado se inician por un grupo de células que se dividen en los flancos de un meristemo vegetativo o floral. En algún punto, estas células empiezan a comportarse como una unidad integrada, con un eje de crecimiento alterado y un potencial de desarrollo más restringido que el propio meristemo apical. Al menos algunas de las células del meristemo vegetativo retienen la capacidad de dividirse indefinidamente; sin embargo, las células derivadas que forman la hoja o el entrenudo se dividirán únicamente por un número limitado de veces antes que el crecimiento cese. Las células de un primordio se dividen siguiendo un patrón característico y complejo para formar un órgano tal como una hoja, pero en algún punto toda la actividad mitótica que contribuye al cuerpo de la hoja cesa, y cualquier crecimiento subsecuente ocurre únicamente por alargamiento celular (Fosket, 1994).

En las raíces de muchas plantas puede inducirse un patrón de crecimiento determinado en respuesta a condiciones ambientales particulares. Por ejemplo, en *Pisum sativum* el crecimiento de la raíz se frena a una temperatura de 32 °C, pero se reinicia a 25 °C (Gladish y Rost, 1993). En algunas ocasiones este tipo de crecimiento se presenta bajo condiciones ambientales adversas como temperaturas elevadas; posibilitando que la raíz renueve su crecimiento al reestablecerse las condiciones normales, debido a la capacidad proliferativa y de autoconservación del meristemo, si es que éste no ha sufrido algún daño grave. En otras ocasiones el crecimiento determinado está acompañado del cese de la actividad proliferativa (Dubrovsky, 1997b).

### **3. CACTACEAE: IMPORTANCIA ECONÓMICA Y ECOLÓGICA**

La familia Cactaceae, comprende una gran variedad de plantas que habitan, principalmente, en zonas áridas y semiáridas. Estos ambientes presentan un nivel bajo de precipitación pluvial y una cantidad muy limitada de agua en el suelo durante la mayor parte del año (Gibson y Nobel, 1986). Este grupo de plantas, originario del Continente Americano, destaca ampliamente dentro de la diversidad florística de México, en donde están representados 52 géneros, 47% del total de géneros conocidos en todo el mundo y 850 especies, 42% del total de la familia, de éstas 715 son endémicas (Bravo-Hollis, 1978; Arias, 1993).

La amplia representación de las cactáceas en México, así como su variedad de usos motivan un gran interés en el hombre. Estas plantas son muy utilizadas como productos alimenticios, medicinas, forraje y combustible, plantas de ornato, en la obtención de fibras y de diversas sustancias como mucílagos, gomas, pectinas y para la construcción de cercas, entre muchos otros (Bravo-Hollis, 1978; Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991; Nobel,

1988). La amplia gama de usos de las cactáceas evidencia el enorme potencial comercial que pueden tener algunas especies (León de La Luz, *et al.*, 1995; Pimienta-Barrios y Nobel, 1994, 1995; Pimienta-Barrios, *et al.*, 1995).

Las adaptaciones de las cactáceas a las condiciones de un ambiente árido consisten en especializaciones morfológicas y fisiológicas para el manejo eficiente del agua. Entre las especializaciones morfológicas más notables se encuentran: la succulencia, la reducción de la superficie transpiratoria al adquirir formas globosas, la atrofia hasta estados vestigiales del limbo de las hojas o su transformación en espinas y glóquidas, el engrosamiento y las excrecencias cerosas de la epidermis, la disminución y disposición hundida de los estomas (Bravo-Hollis, 1978; Nobel, 1988). En tanto que las adaptaciones fisiológicas más sobresalientes son: las propiedades del protoplasma para subsistir durante la sequía, la capacidad de las raíces para absorber agua con rapidez, la asimilación activa durante la temporada de lluvias y la aceleración del crecimiento, la baja proporción transpiratoria en los períodos secos, la adaptación de algunas especies a la presión osmótica de suelos salinos, y la fijación nocturna del dióxido de carbono durante el proceso de la fotosíntesis, conocido como metabolismo ácido de crasuláceas (Bravo-Hollis, 1978; Nobel, 1988).

### **3. 1 ESTUDIOS SOBRE EL CRECIMIENTO DETERMINADO EN CACTÁCEAS**

Existen investigaciones donde se presentan algunos antecedentes sobre el crecimiento determinado de raíces en cactáceas. Freeman (1970) realizó un estudio sobre la anatomía del desarrollo de *Opuntia basilaris*, donde indica que su raíz primaria crece sólo hasta 2 o 3 cm antes de que haya un desarrollo extensivo de las raíces laterales (Freeman, 1970). Estas características son típicas en el crecimiento determinado; sin embargo, no fue estudiado ni el patrón de crecimiento, ni se realizó un análisis celular. En 1979, Norman H.



Boke describe la presencia de glóquidas y espuelas en la raíz de *Opuntia arenaria* y revela que las raíces laterales presentan un crecimiento determinado (Boke, 1979). En estos trabajos no se analiza con detalle la organización del meristemo apical de las raíces con crecimiento determinado, ni la posible importancia de este patrón de crecimiento. En el laboratorio de Biología del Desarrollo de Plantas del CIBNOR se han realizado investigaciones para conocer el patrón de crecimiento determinado a nivel celular en las raíces de las cactáceas más representativas y que tienen una importancia ecológica y económica en la parte del Desierto Sonorense que le corresponde al estado de Baja California Sur, así como para conocer el papel del crecimiento determinado en el establecimiento de plantas en ambientes áridos. En particular, se han realizado varias investigaciones en torno al crecimiento determinado de la raíz primaria de *S. gummosus* (Dubrovsky, 1996a, 1997a, 1997b), que han servido de base y propiciado la realización del presente trabajo.

### **3.2. HISTORIA NATURAL DE *Stenocereus gummosus***

El género *Stenocereus* pertenece a la subtribu *Stenocereae*, la más importante desde el punto de vista económico de la tribu *Pachycereae* de la subfamilia *Cactoideae*. Este género incluye 24 especies distribuidas desde el suroeste de Estados Unidos hasta Venezuela y Perú (Pimienta-Barrios y Nobel, 1994).

*S. gummosus* es una planta clonal, ya que produce un gran número de ramificaciones decumbentes que enraizan en el sustrato, formando nuevos individuos independientes (Britton y Rose, 1963; León de la Luz y Domínguez-Cadena, 1991; Dubrovsky, 1997a). Además, presenta raíces adventicias bien desarrolladas que pueden alcanzar 4 cm de diámetro y penetrar hasta 60 cm en el sustrato (Dubrovsky, 1997b). Sus raíces primarias se

desarrollan en un período corto, característico del patrón de crecimiento determinado (Dubrovsky, 1997b).

El nombre pitaya, originado en las Antillas, significa fruto escamoso. Los antiguos mexicanos la llamaron "coapetilla", que significa serpiente gruesa -relacionada con la apariencia de los tallos- (Pimienta-Barrios y Nobel, 1994). Desde tiempos prehispánicos varias especies de *Stenocereus* han aportado valiosos complementos a las dietas de las tribus indígenas que habitan las tierras tropicales y subtropicales en las planicies costeras a lo largo del Golfo de México y el Océano Pacífico, así como las regiones semiáridas y subtropicales de México (Pimienta-Barrios y Nobel, 1994). Existen relatos históricos y estudios etnobotánicos que la citan como un recurso alimenticio importante para los habitantes del Desierto Sonorense (León de la Luz y Domínguez-Cadena, 1991). Los españoles le atribuían propiedades medicinales en la cura del escorbuto. Algunas especies de pitayas comenzaron a plantarse comercialmente a finales del siglo XIX; sin embargo, su cultivo siempre se ha hecho a menor escala que el de la tuna (León de la Luz y Domínguez-Cadena, 1991). Recientemente, los agricultores han empleado plantas seleccionadas de poblaciones silvestres, como *S. queratensis*. En lo que se refiere a esta especie se han realizado varios estudios sobre sus características reproductivas y estrategias fisiológicas, donde se analizan las mejoras para su cultivo (Nobel y Pimienta-Barrios, 1994; Pimienta-Barrios y Nobel 1994, 1995; Pimienta-Barrios, *et al.*, 1995).

## OBJETIVOS

### a) Objetivo general.

Caracterizar la organización y el desarrollo determinado del meristemo apical de la raíz primaria de *Stenocereus gummosus*, e interpretar la posible importancia adaptativa del crecimiento determinado en el establecimiento de esta planta en un ambiente árido.

### b) Objetivos particulares.

1. Analizar la dinámica celular de la pérdida de la actividad proliferativa en el meristemo durante el crecimiento de la raíz primaria de *S. gummosus* bajo diferentes regímenes de temperatura.

2. Describir la estructura del ápice meristemático de la raíz primaria de *S. gummosus* en dos tiempos representativos después del surgimiento de la radícula.

3. Evaluar el papel del crecimiento determinado de la raíz primaria de *S. gummosus* en el establecimiento de esta planta en un ambiente árido y en el desarrollo de las raíces laterales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. DESCRIPCIÓN DE *Stenocereus gummosus*

*S. gummosus* (Engelm.) Gibson y Horak, ha sido descrita como una planta suculenta con tallos procumbentes, muy espinosos (Britton y Rose 1963; León de la Luz y Coria, 1992). Esta especie forma matorrales de 10 o más metros de diámetro y de 1 a 3 m de alto, ramificados desde abajo en forma abierta (Bravo-Hollis, 1978). Sus ramas tienen 5 a 8 cm de diámetro y son de color verde oscuro; usualmente con 8 costillas; las aréolas son más bien grandes, distantes entre sí; las espinas son gruesas, redondeadas o algo aplanadas (Bravo-Hollis, 1978). Las flores se presentan entre julio y octubre, son grandes, de coloración blanco-rosadas, a manera de embudo, abren durante la noche (León de la Luz y Coria, 1992). El fruto es ovoide hasta globoso de 6 a 8 cm de diámetro, la cáscara es de color rojo escarlata brillante y la pulpa púrpura, tiene numerosas semillas de color negro, punteadas y reticuladas, de aproximadamente 2.5 mm de largo (Bravo-Hollis, 1978; León de la Luz y Coria, 1992). El fruto de la pitaya es comestible y se emplea en la elaboración de dulces (Britton y Rose 1963; Bravo-Hollis, 1978).

*S. gummosus* tiene una distribución muy amplia en la Península de Baja California e islas adyacentes (Bravo-Hollis, 1978; León de la Luz y Coria, 1992). Sus poblaciones se ubican desde el nivel del mar hasta aproximadamente 800 m.s.n.m. (León de la Luz y Domínguez-Cadena, 1991). Los densos matorrales que forma se encuentran en laderas rocosas, llanos del desierto y mesas rocosas (Britton y Rose, 1963).

### 2. PATRÓN DE CRECIMIENTO DE LA RAÍZ PRIMARIA DE *S. gummosus*

Para describir el patrón de crecimiento de la raíz de *S. gummosus* se germinaron semillas en dos sustratos: a) mezcla de suelo y b) papel filtro, bajo tres regímenes de

temperatura: dos de ellas constantes,  $29\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$  y  $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$  durante el día y la noche, y una variable,  $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$  día y  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$  noche.

## 2.1. OBTENCIÓN DE LAS SEMILLAS

Se colectaron todos los frutos maduros con pulpa roja de *S. gummosus* encontrados en una sola visita (aproximadamente 50 frutos) a una población cercana a Pichilingue, a 18 km al sureste de la ciudad de La Paz, B.C.S. Los frutos fueron despulpados, lavados con agua corriente y sometidos a agitación continua hasta separar completamente las semillas de la pulpa. Al remojar todas las semillas en agua se seleccionaron aquéllas con menor densidad, es decir las que flotaron, éstas se dejaron secar a temperatura ambiente (Dubrovsky, 1996b).

Las semillas se conservaron dentro de paquetes de papel aluminio con Silicagel deshidratada (Sigma, Cía. Química, E.U.A.) y se mantuvieron en refrigeración entre  $6$  y  $8^{\circ}\text{C}$ .

## 2.2. GERMINACIÓN DE LAS SEMILLAS

Antes de poner a germinar las semillas, se sometieron a un procedimiento aséptico superficial durante cinco minutos, en una mezcla de Hipoclorito de Sodio 5.25% (cloro comercial) y de Tritón X-100 al 10% ( $1\mu\text{l}/\text{ml}$ ). Después se enjuagaron 5 veces, de 2 a 3 minutos, con agua destilada (Dubrovsky, 1996b).

Para germinar las semillas en suelo, se mezcló suelo arenoso, perlita y fibra de coco en proporción 2 : 1 : 1. Esta mezcla se colocó en recipientes de plástico de 19.5 cm X 13 cm X 4.5 cm agujerados en la base. El sustrato se saturó de agua, sumergiéndolo completamente en un recipiente mayor con una solución de fungicida Captan 4.3% en agua purificada. Las semillas se distribuyeron azarosamente alrededor del recipiente, éste fue

envuelto en una bolsa de plástico para evitar la evaporación del agua y se conservó en un fotoperíodo de 12 h ( $38 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) y humedad relativa entre 65 y 75% (Dubrovsky, 1996a), a una temperatura constante de 29 °C.

En el otro tratamiento, las semillas se germinaron sobre papel filtro (Whatman, E.U.A., 125 mm de diámetro) en cajas de Petri grandes (140 mm de diámetro) y 20 ml de solución mineral de Hoagland al 20% (Hoagland y Arnon, 1938). Las cajas de Petri se mantuvieron en posición inclinada (18 a 20° al horizonte) en las mismas condiciones controladas que las semillas germinadas en suelo. En este sustrato se germinaron semillas bajo los tres diferentes regímenes de temperatura probados.

### **2.3. CRECIMIENTO DE LA RAÍZ PRIMARIA**

El patrón de crecimiento de la raíz primaria de pitaya agria se registró bajo temperaturas constantes (22 y 29 °C). Al cuarto día de haber sido puestas a germinar se seleccionaron aquellas semillas con la testa rota, es decir antes del tiempo en que emerge la radícula, para considerar plántulas del mismo estadio de desarrollo. Se sometieron 20 semillas a 22 °C, y 12 fueron mantenidas a 29 °C. Cada grupo fue colocado por separado en una caja de Petri sobre papel filtro en posición inclinada, las semillas fueron acomodadas en una sola línea a lo largo del diámetro de la caja, aproximadamente 1.5 cm arriba del nivel de la solución mineral de Hoagland al 20% adicionada. Se realizaron observaciones y mediciones diarias de la longitud de la raíz con papel milimétrico o regla. Se evitó mover o cambiar de posición las raíces, ya que se puede afectar o inhibir su crecimiento (Dubrovsky, com. pers.). Se elaboraron curvas de crecimiento para ambas condiciones de temperatura constante utilizando el paquete Sigma Plot 3.02 para Windows (Jandel Scientific, 1986 -

1995). Se aplicó una prueba t-Student (Zar, 1984) con el fin de determinar si existen diferencias en el tamaño de la raíz después del segundo día.

Por otro lado, se realizaron algunas observaciones y mediciones en raíces de plántulas germinadas en la mezcla de suelo para verificar su patrón de crecimiento.

### **3. ACTIVIDAD MERISTEMÁTICA DE LA RAÍZ PRIMARIA DE *S. gummosus***

Para el análisis de la actividad meristemática se realizaron cortes histológicos en micrótopo de raíces primarias incluidas en Cera de Steedman e Histo-resina y a mano de raíces vivas.

#### **3.1. CORTES EN MICRÓTOMO, PROCESAMIENTO DE LAS RAÍCES**

Después de 4 días de haberse puesto a germinar, se separaron las semillas que presentaban la testa rota, esto fue considerado como el tiempo cero. Las semillas se colocaron en una sola línea por caja de Petri. A partir de este momento, se seleccionaron raíces primarias cada 12 h hasta 96 h; es decir se consideraron los tiempos 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 y 96 h, ya que el meristemo apical de *S. gummosus* mantiene su actividad durante 48 h; sin embargo, las células meristemáticas se diferencian hasta las 24 h siguientes (Dubrovsky, 1996a) y es importante comprobar la pérdida de actividad proliferativa.

Las plántulas seleccionadas en cada tiempo se fijaron en una mezcla de 2.5% Formaldehído (Sigma), 0.25% Glutaraldehído (Sigma) y 0.1 M de Solución Amortiguadora de Fosfatos, pH 7.0 (Kerk y Feldman, 1995). Posteriormente, las radículas fueron cortadas desde la base del hipocótilo.

La mitad de las radículas fueron incluidas en cera de Steedman (Norenburg y Barret, 1987) y la otra parte en Historesina Technovit 7100, un medio sintético con una temperatura de polimerización baja (Leica Instruments GmbH; Fujie, *et al.*, 1993; Scheres, *et al.*, 1994).

### **3.1.1. INCLUSIÓN DE LAS RAÍCES EN CERA DE STEEDMAN**

La Cera de Steedman fue preparada de acuerdo con Norenburg y Barret (1987). Se fundieron 90 partes de Di-esterado Glicol Polietileno 400 (Aldrich) a 60° C y se añadieron 10 partes de 1-Hexadecanol -Alcohol Cetílico- (Aldrich), agitando ocasionalmente hasta que se formó un fluido uniforme.

Las raíces fijadas se enjuagaron en 0.1 M de Solución Amortiguadora de Fosfatos pH 7.0, en tres ocasiones. Se deshidrataron a través de las siguientes diluciones de Alcohol en Solución Amortiguadora de Fosfatos, pH 7.0: 30%, 50%, 70%, 85% y 96%, 20 minutos en cada una. Después las raíces se pasaron tres veces por Alcohol 100% durante 15 min. En la primera de las incubaciones se adicionaron 2 gotas de solución acuosa (1mg/ml) de Azul Alciano (Sigma), se dejó a las raíces 5 minutos más en esta solución. Lo anterior se hizo con el fin de teñir la parte superficial de las radículas para facilitar la orientación y el acomodo en los recipientes a la hora de incluir.

La cera preparada se fundió entre 37 y 40 °C en una incubadora (VWR Scientific, Modelo 1500 E), al igual que la mezcla de cera de Steedman y Alcohol 100% 1:1. Las radículas se colocaron primero en esta mezcla durante 30 min. Posteriormente, se transfirieron en tres ocasiones a cera pura por una hora y se dejaron en la Solución de Infiltración toda la noche (12 h). Antes de incluirlas se calentó todo el material necesario (pinzas, moldes, navajas, agujas de disección) en una placa de calentamiento (Lab-Line Instruments, Inc.) a 39°C. La parte apical de las radículas se colocó en pequeños recipientes



diseñados con cinta adhesiva de doble lado pegada a un acetato como base, en la cinta se realizaron agujeros de forma rectangular de 3 X 7 mm aproximadamente, o el área suficiente donde pudieran introducirse las raíces. Los ápices se orientaron de manera que quedaran lo más rectos posible. Después se adicionó la cera y se dejaron secar a temperatura ambiente, para más tarde realizar los cortes en el micrótopo.

### **3.1.2. INCLUSIÓN EN HISTORESINA**

La Solución de Infiltración de Historesina se preparó según las indicaciones del fabricante (Leica Instruments GmbH), mezclando 50 ml de Base Líquida de Resina más 0.5 g de Activador, se agitó continuamente y se almacenó en un recipiente cerrado y oscuro en el refrigerador a 4°C. El Medio de Inclusión se obtuvo adicionando 1 ml de Endurecedor en 15 ml de la Solución de Infiltración, esta mezcla se utilizó de inmediato.

Las raíces fijadas se enjuagaron tres veces en 0.1 M de Solución Amortiguadora de Fosfatos, pH 7.0. Se deshidrataron a través de las siguientes diluciones de Alcohol en la Solución Amortiguadora: 30%, 50%, 70%, y 85%, 20 min en cada una. Después se colocaron dos veces en Alcohol 96% durante 1 hora. En la primera incubación en Alcohol 96% se adicionaron 2 gotas de Azul Alciano para facilitar la orientación al momento de incluir.

Posteriormente, las raíces se colocaron en mezclas de Alcohol y Solución de Infiltración de Historesina 3:1, 1:1 y 1:3 durante una hora respectivamente, y después en la Solución de Infiltración pura por una hora. Por último, se dejaron en la Solución de Infiltración toda la noche. Todos los pasos para infiltrar las radículas se realizaron a una temperatura de 4 °C, aplicando a las muestras contenidas en un desecador una presión negativa de 8.5 libras durante 3 minutos mediante una bomba de vacío (Emerson Motor Division). Para incluir las radículas en Historesina se colocaron en moldes circulares fabricados con papel aluminio.

La Histoiresina endureció a temperatura ambiente, pocos minutos después de adicionarle el catalizador.

### **3.1.3. MONTAJE**

Los portaobjetos se remojaron alrededor de 24 h en una solución saturada de Bicromato de Potasio (Sigma) en Ácido Sulfúrico Concentrado, Mezcla Crómica. Después se lavaron con una solución limpiadora y con jabón líquido, se enjuagaron en agua corriente 10 veces, así como con agua purificada y destilada. Los portaobjetos se conservaron en Alcohol en un recipiente cerrado. Se pusieron a secar en una incubadora a 37°C. Una vez secos se remojaron en 1% de grenetina durante cinco minutos y se dejaron secar en posición inclinada a 37°C en la incubadora. Esto se realizó con el fin de que los cortes tuvieran una mejor adhesión a los portaobjetos, para evitar su pérdida al transferirlos por diferentes soluciones.

Las raíces incluidas en Cera de Steedman, así como las incluidas en Histoiresina se desprendieron de los moldes y una a una se adherieron a soportes de madera para fijarlos en el micrótomo (Reichert Jung AG, Heilderberg, 19564). Los ápices de las raíces se orientaron en dirección paralela a la navaja del micrótomo. Se realizaron cortes de 7µm. Las secciones se colocaron cuidadosamente en agua sobre los portaobjetos procesados con anticipación. Se retiró cuidadosamente el exceso de agua con papel filtro y se dejaron secar en una placa de calentamiento a 37 °C aquéllos incluidos en Cera de Steedman y a 60 °C los de Histoiresina.

### **3.1.4. TINCIÓN DE LOS CORTES EN MICRÓTOMO**

Para las observaciones de la anatomía general, las preparaciones en Cera de Steedman se tiñeron por diferentes métodos histoquímicos: Feulgen (Berlyn y Miksche, 1976)

combinado con Azul Alciano (Dubrovsky, com. pers.), Ácido Peryódico de Schiff (PAS; Clark, 1981), Rojo de Rutenio (Scheres, *et al.*, 1994), 2 Prociones (Ivanov, 1987). Los cortes en Historesina fueron teñidos con 0.1% de Azul de Toluidina O (Sigma), éstos fueron observados directamente (sin cubreobjetos).

Para la deshidratación y aclareamiento del material, después de la tinción, las laminillas se pasaron por una serie de solventes de graduación ascendente:

---

Alcohol 96% I	5 minutos
Alcohol 96% II	5 minutos
Alcohol absoluto 100%	5 minutos
Alcohol-Xilol 1:1	5 minutos
Xilol I	5 minutos
Xilol II	5 minutos

Los cortes fueron montados en Bálsamo de Canadá (Sigma) o Cytoseal (Stephens Scientific) y se cubrieron cuidadosamente. Todos los cortes se observaron en un microscopio de campo claro (Olympus BX50).

No se obtuvo un número suficiente de cortes longitudinales centrales debido a que el material histológico resultó frágil y la preparación de los cortes centrales presentó cierta dificultad. Por lo que se probó como alternativa la preparación de cortes manuales de raíces vivas.

### **3.2. CORTES MANUALES DE RAÍCES VIVAS**

Se seleccionaron radículas a los tiempos 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 y 96 horas, tal como se hizo para la inclusión en Cera de Steedman e Historesina. Inmediatamente después de ser seleccionadas, las raíces se cortaron longitudinalmente por la mitad, utilizando hojas de afeitar de filos recubiertos de platino (Gillete, México), para mayor precisión se utilizó un microscopio estereoscópico (Southern Precision) con amplificación 50x.

### 3.2.1. TINCIÓN DE LOS CORTES MANUALES

Para procesar estos cortes se probaron varias técnicas de tinción: 1) Después de cortar, se fijaron las raíces primarias con Alcohol 70% por cinco minutos. Éstas se enjuagaron dos veces con Solución Amortiguadora Salina de Fosfatos -PBS- (Sigma) y se colocaron 30 segundos en 0.005% Yoduro de Propidio (Sigma) en PBS. Este fluorocromo reacciona con el ADN de los núcleos de las células muertas y produce fluorescencia roja. Se enjuagaron dos veces con PBS y se tiñeron también con 0.01% Fluorescent Brightener 28 -Calcofluor White- (Sigma), durante 30 segundos para ver el contraste de los núcleos teñidos con Yoduro de Propidio y las paredes celulares teñidas de azul por la acción del Calcofluor. Al terminar se enjuagaron otras dos veces con PBS.

Se probaron otros fluorocromos, sin fijar las radículas y enjuagándolas con agua destilada. a) Se aplicó 0.01% Naranja de Acridina por 5 min; b) 0.001% DAPI -4',6-Diamidino-2-Fenolindol- (Sigma) por 20 segundos; c) 0.01% Hoechst (Sigma) en PBS durante 30 segundos; y d) 0.01% Fluorescent Brightener 28 por 20 segundos. Estos ensayos mostraron que las tinciones con Fluorescent Brightener 28 resultaban las más convenientes.

Además de las técnicas descritas, se observaron radículas sin cortar de 72 h o más Después del Surgimiento de la Radícula (DSR), haciendo presión ligeramente al colocar el cubreobjetos, debido a que las raíces eran delgadas y frágiles y la mayoría de las células se encontraban ya diferenciadas. Éstas fueron teñidas con 0.01% Azul Alciano o con 0.05% Azul de Toluidina O por 10 minutos.

Las mitades cortadas se colocaron sobre unas gotas de agua en un mismo portaobjetos, para evitar contabilizar dos veces los datos de una misma raíz. Las preparaciones fueron selladas en las orillas con esmalte para uñas (Parfait Cosmetics Ltd.) con el fin de impedir que el agua se derramara al realizar las observaciones.

Los cortes de material fresco fueron observados en un microscopio de campo claro y con fluorescencia con lámpara de mercurio y cubo de filtros de triple excitación DAPI-FITC-Texas Red (Olympus BX50). Las observaciones se realizaron inmediatamente para evitar la desaparición de la fluorescencia y la degradación de los tejidos. Algunas laminillas fueron refrigeradas, conservándose un par de días en oscuridad para un análisis posterior.

### **3.3. PARÁMETROS DE LA ACTIVIDAD MERISTEMÁTICA**

Las preparaciones de raíces cortadas en micrótopo o a mano, donde se encontraron cortes longitudinales centrales o muy cercanos al centro fueron utilizadas para el conteo del número de células en el meristemo apical, la medición de la altura relativa del meristemo y la longitud de la zona de crecimiento en la raíz primaria de *S. gummosus*. Estos parámetros estuvieron relacionados con características de la zona de crecimiento de la raíz, conformada por la zona meristemática y la zona de elongación.

Los criterios que sirvieron para reconocer a las células meristemáticas y la frontera del meristemo fueron: 1) tamaño relativamente pequeño y forma isodiamétrica de la célula, 2) distancia corta entre los núcleos de células vecinas en una fila (distancia igual o menor al diámetro del núcleo), y 3) núcleos que abarcaban la mayor parte de la célula.

La altura del meristemo es relativa, debido a que la frontera entre el meristemo y la zona de elongación es diferente para cada tejido (Rost, *et al.*, 1988). La altura relativa del meristemo se estimó midiendo la distancia entre la unión caliptra-cuerpo hasta el punto donde se puede distinguir el alargamiento de las células de un determinado tejido (Rost y Baum, 1988). La longitud de la zona de crecimiento se estimó a partir de la distancia hasta los primeros pelos radicales, es decir, hasta la frontera entre la zona de elongación y la zona de diferenciación.

Los datos de la altura relativa del meristemo, el número de células en el meristemo y la longitud de la zona de crecimiento fueron colectados en un mínimo de 3 raíces por cada tiempo. Los valores promedio y el error estándar de los parámetros mencionados fueron graficados para agilizar su análisis. Se analizaron en total 120 raíces. Se realizaron regresiones lineales de primer orden para conocer el modelo teórico que define el comportamiento de la actividad meristemática, con el paquete Sigma Plot 3.02 para Windows (Jandel Scientific, 1986 -1995).

#### **4. ESTRUCTURA DEL MERISTEMO APICAL DE LA RAÍZ PRIMARIA DE *S. gummosus***

La organización del meristemo se caracterizó a partir de las raíces seccionadas en el micrótopo y de las cortadas manualmente. Se utilizaron los criterios descritos en el apartado anterior para identificar a las células meristemáticas y los límites del meristemo.

Algunas imágenes de los cortes de los ápices de las raíces se transfirieron del microscopio a la computadora mediante una cámara digital (DIC-D Digital Imaging Camera, World Precision Instruments, Inc.) conectada al microscopio. Estas imágenes se procesaron en el paquete Sigma Scan Pro versión 2.0 para Windows (Jandel Scientific, 1987 -1995). Por medio de estas imágenes se midió la longitud de las células en dos tejidos embrionarios (periblema y pleroma) y en el promeristemo, 12 y 48 h después de el surgimiento de la radícula (DSR). El término "promeristemo" se refiere a un grupo distal de células meristemáticas que están involucradas en la regeneración y el establecimiento del meristemo (Clowes, 1959). Las longitudes de dichas células 12 y 48 h DSR se compararon mediante la prueba estadística t-Student (Zar, 1984).

## 5. CORRELACIÓN ENTRE LA PÉRDIDA DE LA ACTIVIDAD MERISTEMÁTICA Y LA FORMACIÓN DE LAS RAÍCES LATERALES

Se realizó un experimento con plántulas de *Stenocereus gummosus*, *S. thurberi* y *Ferocactus peninsulæ*, especies que presentan un patrón de crecimiento determinado (Dubrovsky, 1997a), para confirmar la correlación entre la pérdida de la actividad meristemática y el desarrollo de raíces laterales, como un fenómeno característico del crecimiento determinado presente no sólo en *S. gummosus*. En este experimento se germinaron, en papel filtro en la forma en la que se explicó anteriormente (apartado 2.2), semillas de *S. gummosus*, *S. thurberi* (Engelm.) Buxbaum, *Ferocactus peninsulæ* (F. A. C. Weber) Britton y Rose var. *townsendianus* (Britton y Rose) N. P. Taylor status novum, y *Lophocereus schottii* (Berger) Britton y Rose; esta última se descartó del análisis debido a que no presentó un crecimiento determinado típico.

Se seleccionaron plántulas con radículas entre 0.5 a 1 mm de longitud y se mantuvieron en las mismas condiciones en las que fueron germinadas. Todas las raíces fueron revisadas diariamente con el ocular micrómetro de un microscopio óptico (Olympus TE-II), registrando el número de plántulas que presentaron pelos radicales hasta la punta (considerado como criterio de la pérdida de actividad proliferativa) y el número de plántulas con primeras raíces laterales formadas. Este ensayo se realizó por triplicado para cada especie, en 90 a 99 raíces de *S. gummosus*, 100 a 101 para *S. thurberi* y 70 a 75 raíces de *F. peninsulæ*.

En este experimento fueron calculados los porcentajes promedio de raíces con pelos radicales hasta la punta y el porcentaje promedio de raíces primarias que presentaron raíces laterales cada 24 h.

## RESULTADOS

### 1. PATRÓN DE CRECIMIENTO DE LA RAÍZ PRIMARIA DE *S. gummosus*

Las raíces primarias de *S. gummosus* en papel filtro crecieron de manera constante durante los primeros 2 días después del surgimiento de la radícula. En los siguientes días, no se registraron cambios significativos en la longitud promedio de las raíces primarias, hasta que la curva se volvió asintótica alrededor del día seis. Sin embargo, después del segundo día no hubo diferencias significativas en el tamaño de la raíz primaria ( $P > 0.05$ , t-Student). Este patrón de crecimiento se presentó en ambas temperaturas constantes (22 y 29 °C). Sin embargo, a 29 °C las raíces crecieron en promedio 1 mm más que a 22 °C (Fig. 1), por lo que es posible considerar 29 °C como una temperatura óptima para el crecimiento de la raíz de *S. gummosus*.

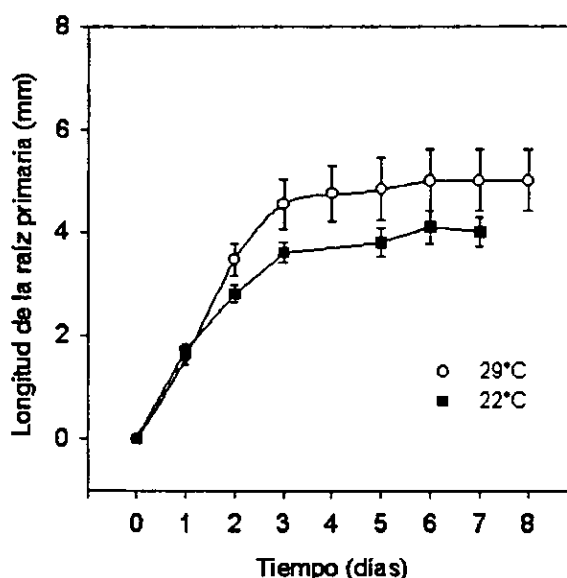


Figura 1. Crecimiento determinado de la raíz primaria de *S. gummosus*, después del surgimiento de la radícula, bajo condiciones de temperatura constante. 22 °C (n=20) y 29 °C (n=12). Promedio  $\pm$  error estándar

El análisis del crecimiento de la raíz de *S. gummosus* en suelo, fue delicado y menos preciso, debido a que una vez desenterradas resultaba difícil despojar a las radículas totalmente del sustrato; además, no era posible seleccionar plántulas del mismo estadio de



germinación, por tales motivos no se hicieron mediciones diariamente. El surgimiento de las radículas se detectó después de 4 días de haber sido colocadas en el sustrato. En algunas raíces se observaron pelos radicales hasta la punta 8 días después de haberse iniciado la germinación, este comportamiento es parecido a lo observado sobre papel filtro (Ver siguiente apartado). Dichas raíces presentaron una longitud promedio de  $5.3 \text{ mm} \pm 0.58$  ( $n=3$ ). Después de 3 semanas de haber sido puestas a germinar, algunas raíces midieron  $4.67 \pm 1.05$  ( $n=15$ ), transcurridas 4 semanas la longitud promedio no cambió ( $4.4 \pm 1.59$ ,  $n=15$ ). En plántulas germinadas en suelo se observaron raíces laterales bien desarrolladas; en la mayoría de los casos, las raíces laterales alcanzaron un tamaño parecido al de la raíz primaria o incluso prácticamente la sustituyeron.

## 2. ACTIVIDAD MERISTEMÁTICA EN LA RAÍZ PRIMARIA DE *S. gummosus*

El número de células en el meristemo fue determinado únicamente en la protodermis (epidermis meristemática), ya que es un tejido externo, fácil de observar. En el meristemo apical de la raíz de *S. gummosus*, el número de células epidérmicas disminuyó conforme al tiempo (Fig. 2).

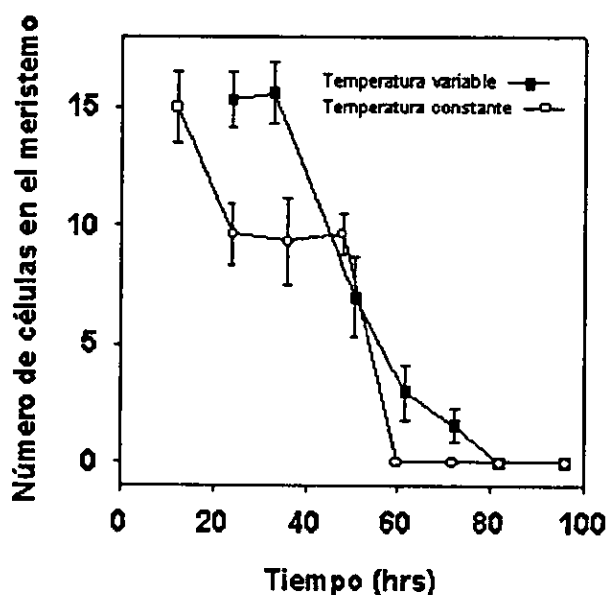


Figura 2. Número de células protodérmicas en una fila del meristemo apical de la raíz primaria de *S. gummosus*, después del surgimiento de la radícula. Promedio  $\pm$  error estándar. Temperatura variable:  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  día,  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  noche, temperatura constante:  $29 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Durante un período de 24 a 36 h Después del Surgimiento de la Radícula (DSR), en condiciones de temperatura constante se contaron en promedio 15 células; después de este período, el número de células disminuyó rápidamente y a las 48 h DSR fueron registradas cerca de 5 células. Una disminución similar fue observada en raíces bajo condiciones de temperatura variable (Fig. 2). El análisis de todos los datos sobre el número de células en el meristemo (Fig. 3) confirma que el tiempo de finalización del desarrollo del meristemo apical ocurre en un período de 48 a 96 h DSR.

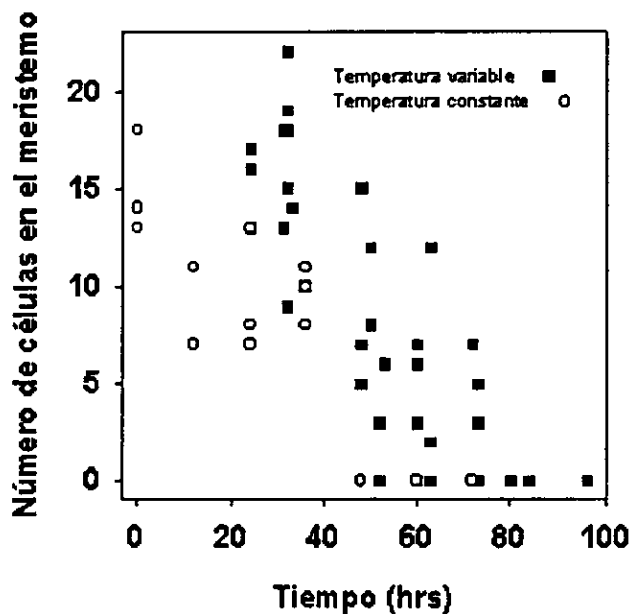


Figura 3. Número de células protodérmicas en una fila del meristemo apical de la raíz primaria de *S. gummosus*, después del surgimiento de la radícula. Temperatura constante  $29 \pm 1^\circ\text{C}$  ( $n=18$ ) y temperatura variable:  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  día,  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  noche ( $n=66$ ).

Durante el período 0 a 12 h DSR, no fue posible registrar la altura relativa del meristemo apical de la raíz de *S. gummosus*, debido a que la radícula se encontraba todavía en estado embrionario y no se detectaba actividad mitótica en el ápice. Después de 12 h del surgimiento de la radícula, se distinguieron figuras mitóticas, prueba de que en este tiempo se estaba realizando actividad meristemática y la raíz estaba creciendo. La altura relativa del meristemo apical bajo condiciones de temperatura irregular se mantuvo estable en el período de 24 a 36 h DSR; posteriormente, a 80 h DSR ésta disminuyó hasta cero (Fig. 4). Con una

temperatura constante fue observado un comportamiento similar, aunque en este caso el término de la actividad merismática se registró 20 h antes (Fig. 4).

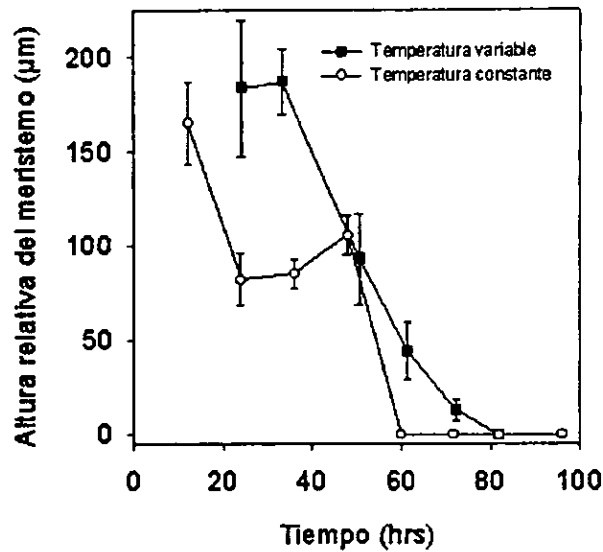


Figura 4. Altura relativa de la fila de células protodérmicas en el meristemo apical de la raíz primaria de *S. gummosus*, después del surgimiento de la radícula. Promedio  $\pm$  error estándar. Temperatura variable:  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  día,  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  noche, temperatura constante  $29 \pm 1^\circ\text{C}$ .

El análisis de la distribución de los datos de altura relativa (Fig. 5) señala que en algunas raíces de *S. gummosus* el desarrollo del meristemo apical finalizó a las 48h DSR.

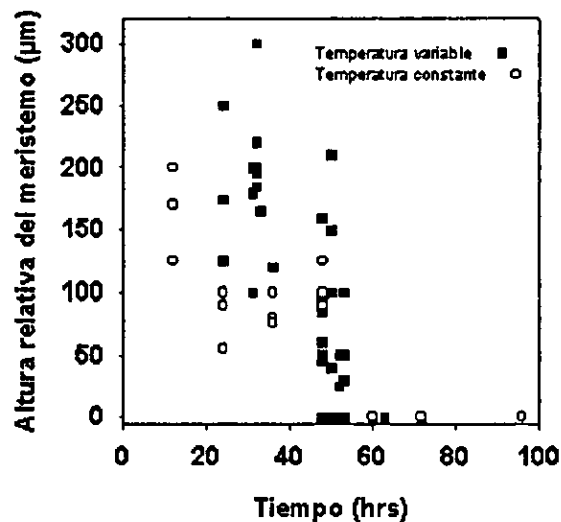


Figura 5. Altura relativa de la fila de células protodérmicas en el meristemo apical de la raíz primaria de *S. gummosus*, después del surgimiento de la radícula. Temperatura constante:  $29 \pm 1^\circ\text{C}$  ( $n=18$ ) y temperatura variable:  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  día,  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  noche ( $n=66$ ).

En las raíces de *S. gummosus* se observó el desarrollo de pelos radicales desde las primeras 12 h DSR, cuando la radícula todavía se encontraba en estado embrionario. Desde las horas inmediatas a la aparición de la radícula, la distancia hasta los primeros pelos radicales fue muy corta (Fig. 4). En estas primeras horas (0-12 h DSR) se observaron células de la protodermis extendidas en dirección radial, aproximadamente 4 a 5 veces más anchas que largas. Estas células, aparentemente inician la formación de pelos radicales sin que se presente un alargamiento significativo. Después de 12 h DSR, la elongación de la raíz fue rápida como resultado de la activación mitótica en el meristemo apical y el inicio de la elongación celular de las células no meristemáticas. A partir de 48 h DSR el tamaño de las zonas de crecimiento disminuyó en forma rápida y significativa. En raíces de 96 h DSR todas la células del ápice aparecieron elongadas y la mayoría presentó pelos radicales en la punta (Fig. 6). Las células completamente elongadas dan inicio a la formación de pelos radicales, por tanto la observación de éstos se consideró como una señal del inicio de la zona de diferenciación o fin de la zona de crecimiento. Los cambios de la zona de crecimiento de la raíz se analizaron como parámetros adicionales para caracterizar la dinámica de la actividad en el meristemo apical.

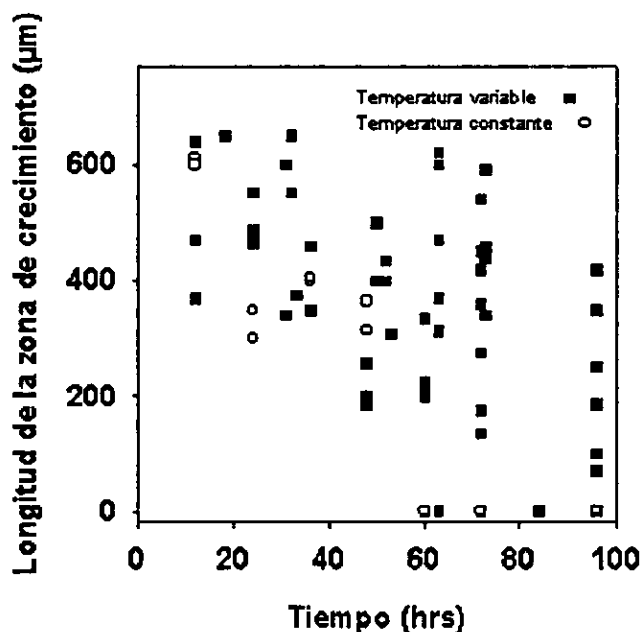


Figura 6. Longitud de la zona de crecimiento de la raíz primaria de *S. gummosus*, después del surgimiento de la radícula. La zona de crecimiento fue estimada como la distancia desde la punta de la raíz (límite entre la caliptra y el cuerpo de la raíz) hasta los primeros pelos radicales. Temperatura constante:  $29 \pm 1^\circ\text{C}$  (n=12) y temperatura variable:  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  día,  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  noche (n=70).

El análisis de regresión de los cambios en el tamaño del meristemo a través del tiempo (expresado con la altura relativa y el número de células) muestra que el meristemo apical en la raíz primaria está presente hasta no más de 96 h DSR (Fig. 7 y 8).

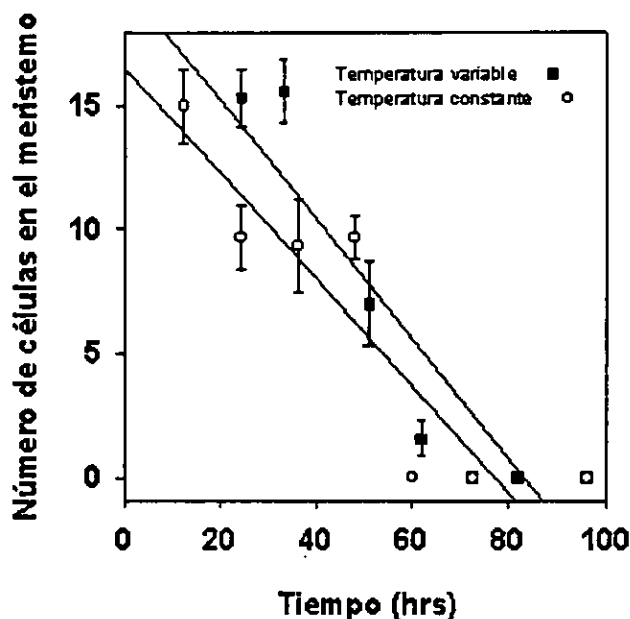


Figura 7. Número de células protodérmicas en una fila del meristemo apical de la raíz primaria de *S. gummosus*, después del surgimiento de la radícula. Regresión lineal de 1er. orden, temperatura constante:  $29 \pm 1^\circ\text{C}$  ( $y=16.5 - 0.2x$ ,  $r^2=0.7$ ) y temperatura variable:  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  día,  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  noche ( $y=20.0 - 0.2x$ ,  $r^2=0.7$ ).

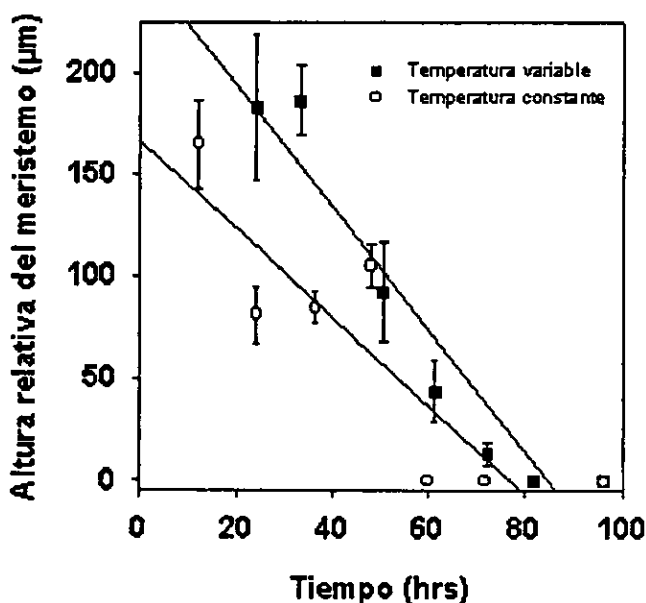


Figura 8. Altura relativa de la fila de células protodérmicas en el meristemo apical de la raíz primaria de *S. gummosus*, después del surgimiento de la radícula. Regresión lineal de 1er. orden, temperatura constante constante:  $29 \pm 1^\circ\text{C}$  ( $y=166.5 - 2.2x$ ,  $r^2=0.7$ ) y temperatura variable:  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  día,  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  noche ( $n=70$ ) ( $y=253.1 - 3.0x$ ,  $r^2=0.7$ ).

Por su parte el análisis de regresión de los cambios en la longitud de la zona de crecimiento con el tiempo señala que teóricamente todos los procesos de crecimiento terminaron 115 h DSR (Fig. 9).

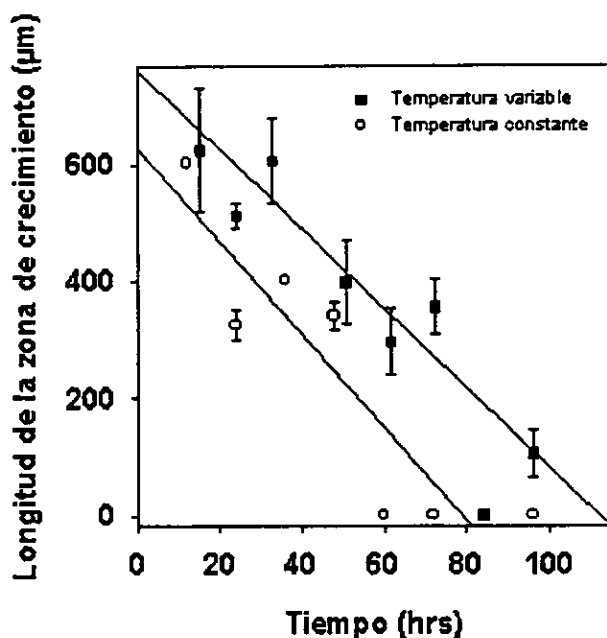
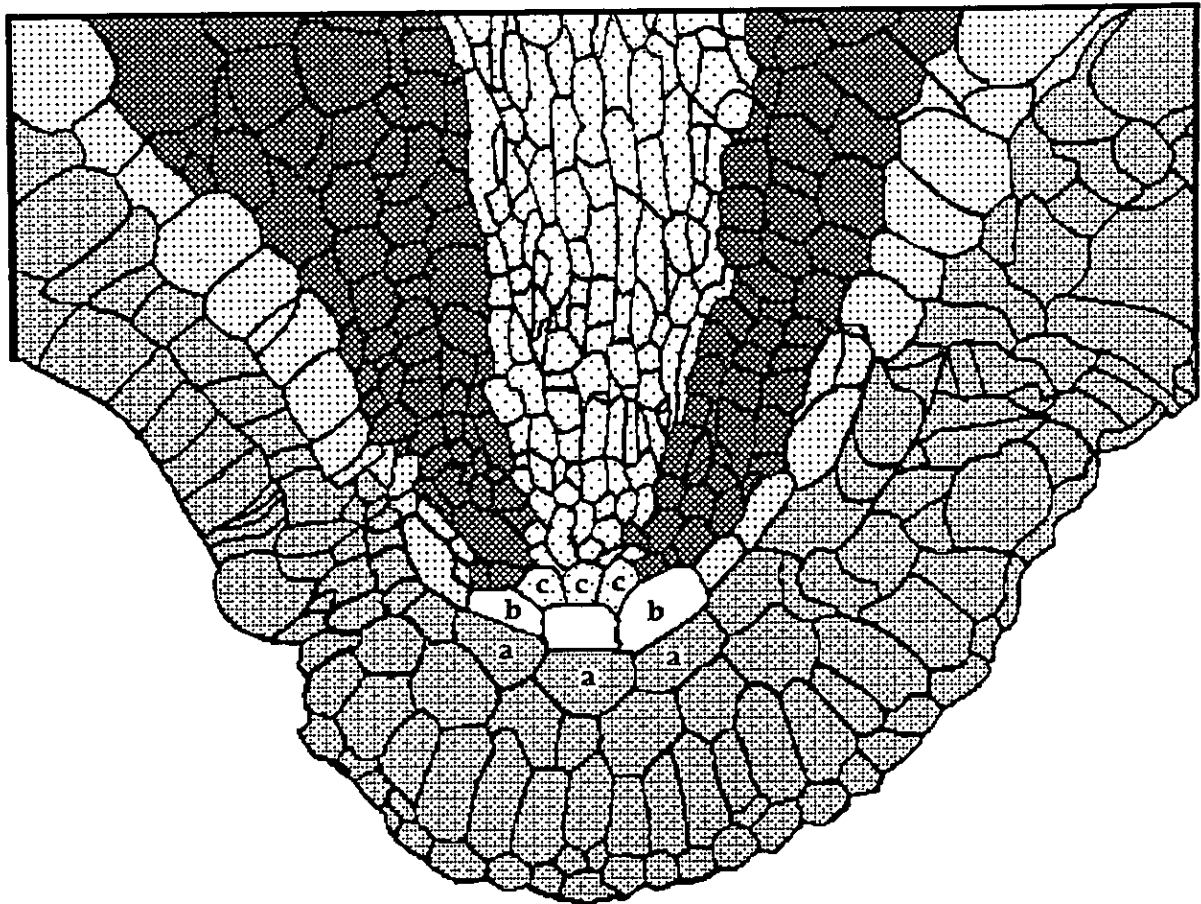


Figura 9. Longitud de la zona de crecimiento de la raíz primaria de *S. gummosus*, después del surgimiento de la radícula. Regresión lineal de 1er. orden, temperatura constante:  $29 \pm 1^\circ\text{C}$  ( $y=626.8 - 7.9x$ ,  $r^2=0.8$ ) y temperatura variable:  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  día,  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  noche ( $y=763.4 - 6.8x$ ,  $r^2=0.5$ ). Promedio  $\pm$  error estándar.

### 3. ESTRUCTURA DEL MERISTEMO APICAL DE LA RAÍZ PRIMARIA DE *S. gummosus*.

*S. gummosus* es una especie que no había sido utilizada antes como objeto de investigación para estudios citológicos mediante métodos histoquímicos. Los experimentos mostraron que los tejidos de sus raíces son muy delicados, debido a su rápida diferenciación y su tamaño pequeño (aproximadamente 200  $\mu\text{m}$  de ancho).

Se seleccionaron los estadios de desarrollo 12 y 48 h DSR para caracterizar la organización del meristemo apical de la raíz primaria de *S. gummosus*. Se eligió 12 h DSR porque desde este tiempo se detecta inicio de actividad proliferativa. Por su parte, 48 h DSR fue seleccionado como un estadio previo a la elongación y diferenciación de las células, ya que en este período todavía se observan células meristemáticas.



\_\_\_\_\_ 20  $\mu$ m

### LEYENDA

	Caliptra		Pleroma
	Protodermis		Periblema

Figura 10. Organización del meristemo apical de la raíz primaria de *S. gummosus*, 12 h después del surgimiento de la radícula. Corte longitudinal promedio.

a Células iniciales de la caliptra.

b Células iniciales de la protodermis y el periblema.

c Células iniciales del pleroma.

La caliptra presentó un tamaño relativamente pequeño en las raíces de *S. gummosus*. Esto indica que probablemente no hay producción de nuevas células para esta estructura, confirmando la pérdida de la actividad meristemática. El meristemo apical y la caliptra topográficamente forman el ápice de la raíz (Esau, 1977), por lo que para la consideración de los cambios estructurales en el meristemo apical es también importante analizar el desarrollo de la caliptra durante el crecimiento determinado de la raíz.

### **3.1. ORGANIZACIÓN DEL MERISTEMO APICAL 12 h DSR.**

En este estadio de desarrollo, la caliptra de la raíz primaria de *S. gummosus* está constituida por 4 capas de células de diferentes tamaños. La capa más externa está compuesta por células más pequeñas que las capas internas. Las células iniciales de la caliptra, probablemente están representadas por tres células centrales relativamente grandes (a en fig. 10).

En este tiempo, se distinguieron una fila de protodermis (epidermis no diferenciada), tres filas de periblema (corteza no diferenciada) y 11 filas de pleroma (cilindro central o estele no diferenciado); aunque no se identificó endodermis y periciclo. En el meristemo apical de una raíz 12 h DSR se observó una célula que probablemente actúe como célula inicial de la protodermis y el periblema (b en fig. 10) y tres células que aparentemente funcionan como células iniciales del pleroma (c, fig. 10). La organización del meristemo apical 12 h DSR se considera cerrada, ya que, aparentemente cada tipo de tejido (protodermis, periblema y pleroma) cuentan con sus células iniciales correspondientes.

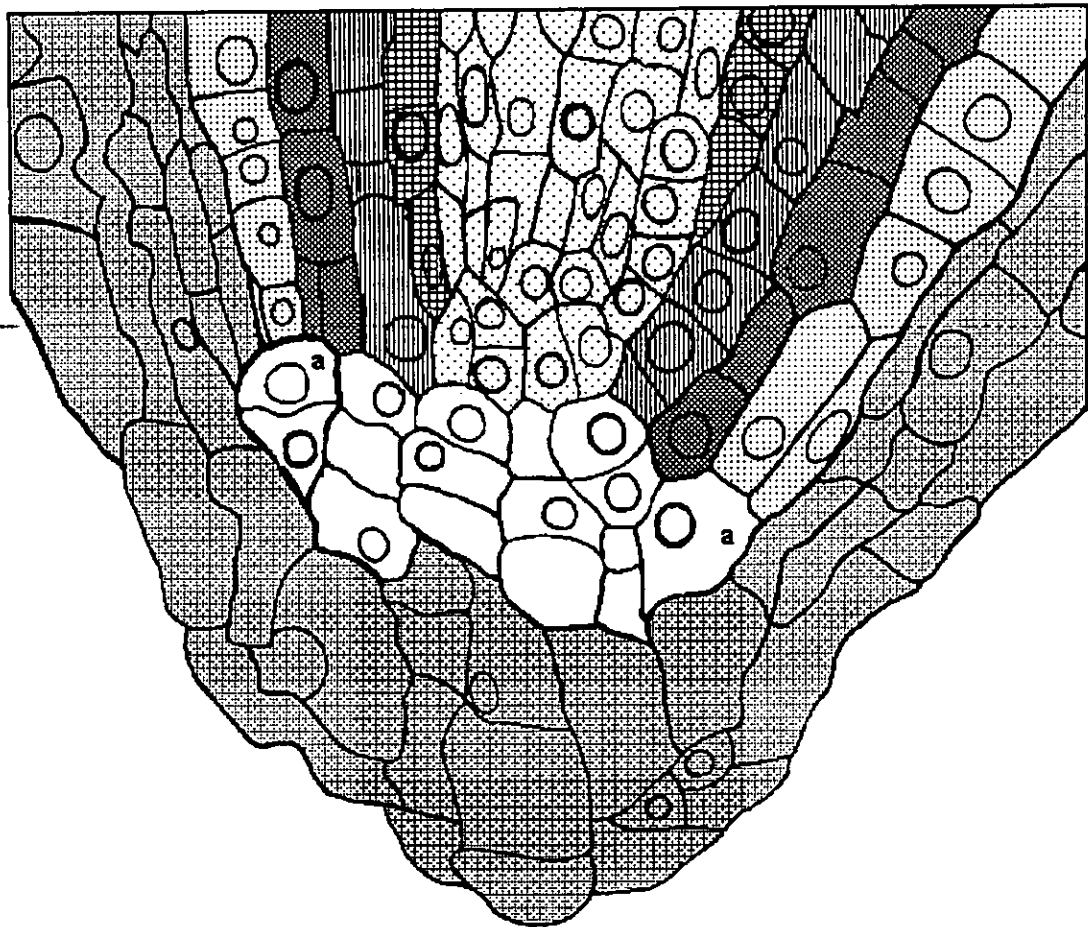


### 3.2. ORGANIZACIÓN DEL MERISTEMO APICAL 48 h DSR.

En el análisis de los cortes longitudinales 48 h DSR se observaron un gran número de caliptras reducidas, ya que con frecuencia cubrían no más de 5 a 7 células de protodermis (contando las células en una fila desde la frontera proximal de la caliptra y el cuerpo de la raíz) y estaban compuestas de no más de tres filas de células (Fig. 11). Desde las 24 h DSR fueron observadas raíces con caliptras desprendidas, muy reducidas en tamaño -por ejemplo, se encontró una caliptra con 86  $\mu\text{m}$  de altura, formada por 6 a 8 células elongadas- o incluso sin caliptra.

En el meristemo apical 48 h DSR se observaron los mismos tejidos primarios descritos en la radícula 12 h DSR. Las células de la protodermis eran compactas. El periblema está integrado por 3 filas en la parte basal y dos filas en la parte apical, aparentemente, en la fila interior se observa la endodermis (Fig. 11). Conformando el pleroma se contaron alrededor de 12 a 14 filas, la más externa es posible que corresponda a una fila de periciclo (Fig. 11).

Como fue indicado, a las 12 h DSR se distinguieron células iniciales para cada tejido, las cuales no se reconocieron a 48 h DSR. En este tiempo se localizó un grupo de 16 células en la parte distal del meristemo. El análisis topográfico sugirió que estas células no pertenecen a ningún tipo de tejido. Por lo tanto es posible considerar que el meristemo apical en este período presentó una estructura abierta. Un par de células periféricas del mencionado grupo de células distales, aparentemente dan origen a la protodermis y el periblema, siendo análogas a las células iniciales señaladas 12 h DSR (a en figs. 10 y 11); sin embargo, se requiere confirmar estas observaciones.



20µm

### LEYENDA








	Caliptra		Periciclo
	Protodermis		Pleroma
	Periblema		Promeristemo
	Endodermis		

Figura 11. Organización del meristemo apical de la raíz primaria de *S. gummosus*, 48 h después del surgimiento de la radícula. Corte longitudinal promedio.  
a) Células iniciales de la protodermis y el periblema.

El análisis de la estructura del meristemo apical en la raíz primaria de *S. gummosus* 12 y 48 h DSR muestra que el meristemo cambia de cerrado a abierto durante su desarrollo. La organización cerrada del meristemo se observó 12 h DSR, cuando todavía no se presentaba proliferación celular. Mientras que la estructura abierta 48 h DSR estuvo, de alguna forma, relacionada con la actividad proliferativa y su posterior disminución. Esto apunta a que los cambios estructurales del meristemo pueden deberse a diferencias en la actividad proliferativa a las 12 y 48 h DSR. Como una medida para confirmar lo anterior, se estimaron los tamaños de algunas células del periblema, pleroma y promeristemo en los dos estadios. Las células del promeristemo, aparentemente, tuvieron un tamaño promedio similar en ambos tiempos (Tabla I y figs. 10 y 11). El periblema y el pleroma 12 h DSR, presentaron aproximadamente la mitad del tamaño de las células 48 h DSR (Tabla I y figs. 10 y 11). El análisis estadístico indica que no existieron diferencias significativas en el tamaño de las células en el promeristemo a 12 y 48 h DSR ( $P>0.05$ ) y si las hubo para las células del periblema ( $P<0.05$ ) y el pleroma ( $P<0.05$ ).

**TABLA I. Longitud de las células de diferentes tejidos del meristemo apical de la raíz primaria de *S. gummosus* a 12 y 48 h después del surgimiento de la radícula.**

TEJIDO	Longitud Promedio ( $\mu\text{m}$ ) de las Células $\pm$ Error Estándar	
	12 h DSR	48 h DSR
Promeristemo	17.6 $\pm$ 0.2 (a)	18.2 $\pm$ 0.1 (a)
Periblema	8.6 $\pm$ 0.1 (b)	13.9 $\pm$ 1.0 (c)
Pleroma	6.8 $\pm$ 0.1 (d)	14.3 $\pm$ 0.1 (e)

**Nota:** Letras diferentes en el mismo tejido a 12 y 48 h DSR indican que existe una diferencia significativa en las longitudes de las células ( $P<0.05$ , t-Student).

#### 4. CORRELACIÓN ENTRE LA PÉRDIDA DE LA ACTIVIDAD MERISTEMÁTICA Y LA FORMACIÓN DE RAÍCES LATERALES

En este experimento se observó que:

a) Las curvas de la dinámica de la pérdida de la actividad meristemática y las de la dinámica de la formación de raíces laterales de *S. gummosus*, *S. thurberi*, *F. Peninsulae* tienen un comportamiento similar.

b) El 100% de las plántulas de *S. thurberi*, *S. gummosus* y *F. peninsulae* presentaron pelos radicales hasta la punta los días 3, 4 y 5 DSR, respectivamente (Fig. 12).

c) Todas las plántulas de las especies estudiadas (300 plántulas de *S. gummosus*, 300 plántulas de *S. thurberi* y 220 plántulas de *F. peninsulae*) presentaron, sin excepción, pelos radicales hasta la punta.

d) El agotamiento del meristemo apical en toda la población de cada especie resultó relativamente corto, ya que no tarda más de 6 días.

e) Las primeras raíces laterales en dichas especies crecieron únicamente después de que la actividad del meristemo hubo terminado (Fig. 12).

f) El tamaño de la raíz no determinó la aparición de raíces laterales, puesto que tanto raíces pequeñas como grandes presentaron raíces laterales.

g) No se formaron raíces laterales en todas las plántulas de las especies analizadas y los porcentajes de raíces con raíces laterales fueron diferentes en las tres especies (Fig. 12a, 12b y 12c).

h) Las raíces laterales en *S. gummosus* y *S. thurberi* aparecieron después de 48 h de que se observaron los primeros pelos radicales en la punta de sus raíces primarias (Figs. 12a, y 12b). En el caso de *F. peninsulae*, la aparición de pelos radicales hasta la punta se

presentó 72 h DSR (Fig. 12c). Esto señala que la diferenciación de todas las células del meristemo y la aparición de las raíces laterales ocurrieron en un período corto.

i) El crecimiento determinado aparentemente puede propiciar la formación temprana de raíces laterales.

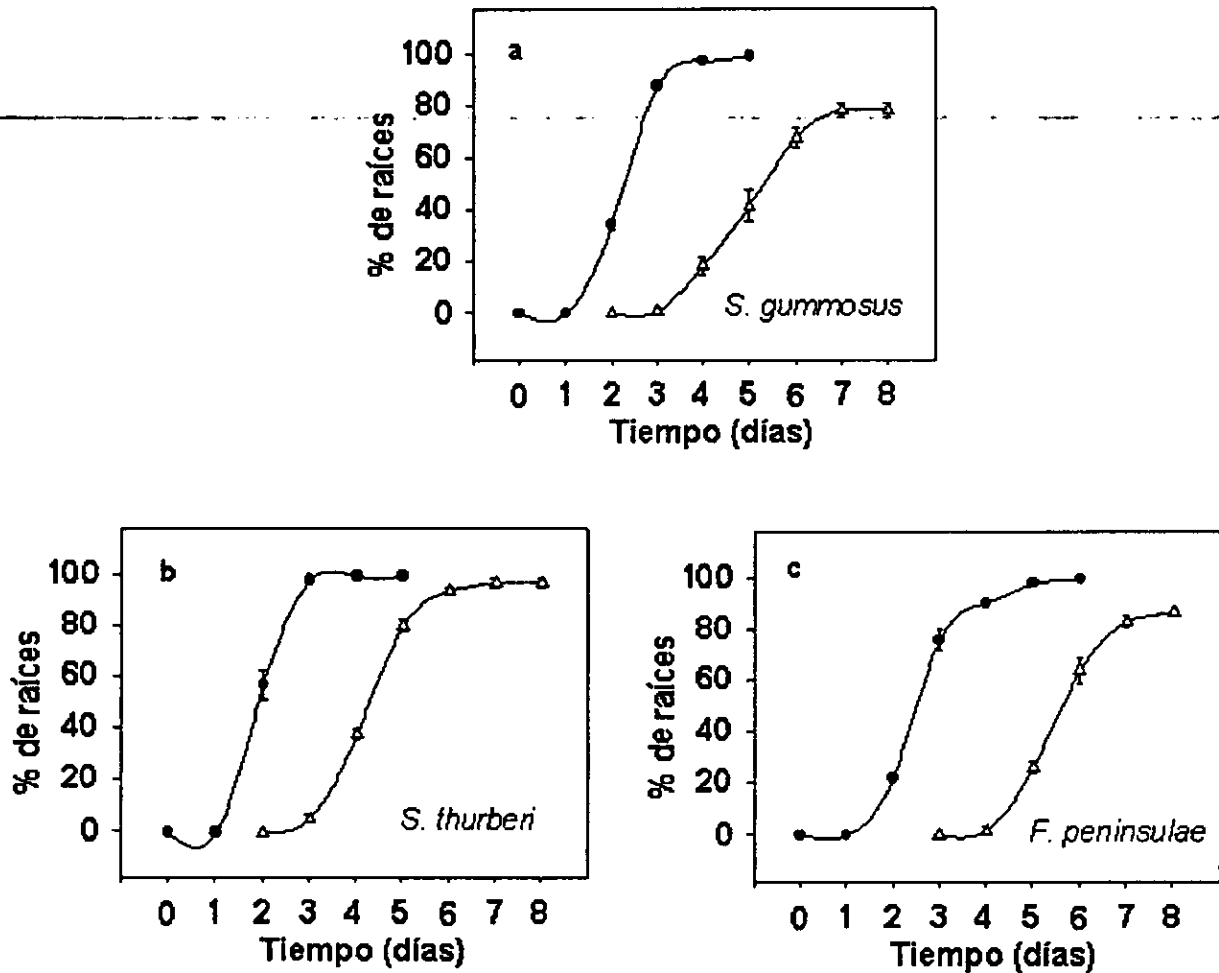


Figura 12. Dinámica del agotamiento del meristemo y de la formación de raíces laterales después del surgimiento de la radícula. El agotamiento del meristemo se registró como el número de raíces con pelos radicales hasta la punta. El surgimiento de raíces laterales fue registrado diariamente en las raíces primarias. En estos gráficos se muestran porcentajes promedio  $\pm$  error estándar (calculados de 3 poblaciones muestrales).

- a. *Stenocereus gummosus*, 90 - 99 raíces por réplica;
- b. *S. thurberi*, 100 - 101 raíces por réplica;
- c. *F. peninsulæ*, 70 - 75 raíces por réplica.

## DISCUSIÓN

### 1. CRECIMIENTO DETERMINADO DE LA RAÍZ PRIMARIA EN *S. gummosus*

La raíz primaria de *S. gummosus* presentó un desarrollo y un crecimiento determinado en los tres regímenes de temperaturas probadas (dos constantes -Fig. 1- y una variable), así como en los dos sustratos en que fueron germinadas las semillas (papel filtro y mezcla de suelo). El crecimiento determinado estuvo acompañado por el cese de la actividad proliferativa, como ha sido reportado en otros trabajos (Dubrovsky, 1997b). La temperatura, disponibilidad de agua, luz/obscuridad u otras de las condiciones a las que estuvieron expuestas las plántulas no influenciaron, ni propiciaron el comportamiento del crecimiento. En diferentes tratamientos experimentales, como condiciones estériles, en ágar solo o suplementado con sacarosa se ha observado este mismo comportamiento (Dubrovsky, 1997a).

El presente trabajo confirmó que la raíz primaria de *S. gummosus* crece en un período corto bajo diferentes temperaturas, debido probablemente a un programa genético de desarrollo de su meristemo apical (Dubrovsky, 1997a, 1997b). Este programa de desarrollo refleja la información genética acumulada durante la historia natural de *S. gummosus* (Dubrovsky, 1997a, 1997b). En este trabajo se analizó la dinámica de la actividad meristemática y la estructura del meristemo apical como una aproximación al conocimiento del programa genético de desarrollo determinado en *S. gummosus*.

### 2. CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL MERISTEMO Y DE LA DINÁMICA DE LA ACTIVIDAD MERISTEMÁTICA DE LA RAÍZ PRIMARIA DE *S. gummosus*

En el cuerpo de la raíz se pueden distinguir las siguientes regiones: zona meristemática, zona de elongación y zona de diferenciación. Las dos primeras conforman la

zona de crecimiento, ya que en ellas se multiplican -zona meristemática- y alargan las células -zona de elongación- (Esau, 1985; Ivanov, 1981).

La organización de los diferentes tejidos de la raíz en filas de células, que resulta de repetidas divisiones transversales (Schiefelbein, *et al.*, 1997), es una característica útil para estimar el número promedio de células en el meristemo. El tamaño del meristemo apical de la raíz puede conocerse a través de su longitud o su ancho, y ser medido de manera física, métrica, o por el número promedio de células (Dubrovsky, com. pers.). El meristemo apical de la raíz primaria de *S. gummosus* mide alrededor de 180  $\mu\text{m}$ , es decir, es un meristemo pequeño en comparación con el meristemo apical de la raíz primaria de maíz que mide entre 1 y 2 mm (Baluska, *et al.*, 1996). *S. gummosus* presentó un promedio de 15 células en su meristemo (Fig. 2), esto se asemeja a lo observado en *Arabidopsis thaliana*, planta pequeña que es utilizada ampliamente como modelo de estudio, compuesta de aproximadamente 15 a 18 células en una fila de la epidermis (Dolan, *et al.*, 1993; Baum y Rost, 1996).

El crecimiento de una raíz puede representarse por medio de una curva formada por los cambios en la longitud de la raíz durante un tiempo determinado. En dicha curva se distingue una fase de crecimiento estacionaria cuando la raíz crece con una velocidad constante. Durante este período el meristemo produce un número de células constante, debido a que mantiene su actividad proliferativa. Teóricamente, en el crecimiento estacionario la zona de elongación también conserva su tamaño, por lo tanto el tamaño de la zona de crecimiento no cambia (Ivanov, 1981, 1994). El análisis de la curva de crecimiento de la raíz primaria de *S. gummosus* muestra que la fase de crecimiento estacionario se presentó los días 1 y 2 Después del Surgimiento de la Radícula -DSR- (Fig. 1). En condiciones de temperatura constante y variable el crecimiento estacionario presentó un comportamiento similar. Sin embargo, con una temperatura variable el período de crecimiento estacionario fue

más largo, debido posiblemente a diferencias en la duración del ciclo celular ocasionadas por una temperatura promedio más baja.

En *S. gummosus* la longitud del meristemo apical de la raíz fue relativamente pequeña. La disminución de su tamaño, analizada a través del número promedio de células y su altura relativa, ocurrió entre 24 y 36 h DSR (Figs. 2 y 4). En este período, bajo condiciones de temperatura variable, se observaron variaciones ligeras, el número promedio de células en el meristemo y su altura relativa no cambian hasta 36 h DSR, ya que posiblemente el meristemo se restablece a si mismo (Figs. 2 y 4). Durante la fase de crecimiento estacionaria, con una temperatura constante, en el meristemo se encontraron un promedio de 15 células (Fig. 2) y se alcanzó un tamaño promedio de 180  $\mu\text{m}$  (Fig. 4), ambos valores fueron mantenidos hasta 18 h DSR y disminuyeron gradualmente en un período de 24 a 60 h DSR (Figs. 2 y 4). Este comportamiento al parecer está relacionado con la variabilidad de temperaturas entre el día y la noche. En conclusión, el crecimiento determinado se caracterizó por un período de crecimiento estacionario corto, que se refleja en la dinámica del crecimiento de la raíz y la dinámica de la disminución del tamaño del meristemo.

La zona de crecimiento fue evaluada por el número de células promedio en la protodermis del meristemo y su altura relativa. En algunas de las raíces de *S. gummosus* la zona de crecimiento dejó de observarse más rápido que en otras en congruencia con la distribución de la población (Fig. 6). Los cambios en el tamaño del meristemo y la zona de crecimiento encontrados (Figs. 2, 4 y 6) están acordes con lo reportado en otros estudios (Dubrovsky, 1996a, 1997a, 1997b).

En la zona de diferenciación las células adquieren una función definida al haber finalizado su crecimiento. El inicio de la formación de pelos radicales indica el límite entre la zona de crecimiento y la zona de diferenciación, ya que solamente las células que terminaron



su elongación pueden diferenciarse (Esau, 1985). En *S. gummosus*, la formación de pelos radicales se observó desde las primeras horas después del surgimiento de la radícula, debido probablemente a que la absorción de agua es un aspecto prioritario. En todas las raíces de todas las especies analizadas se observaron pelos radicales hasta la punta en un período entre 60 y 82 h DSR (Fig. 6), esto es señal de que todas las células de la raíz finalizaron su actividad proliferativa rápidamente y se diferenciaron en un lapso corto. La uniformidad en la pérdida de la actividad meristemática en todas las plantas de *S. gummosus*, *S. thurberi* y *F. peninsulae* indica que el crecimiento determinado es un proceso típico en estas especies.

La raíz de *S. gummosus* finaliza su crecimiento 4 días DSR (Fig. 1). Sin embargo, el análisis de los cambios de la longitud de la zona de crecimiento muestra que la zona de crecimiento está presente hasta 115 h, esto es 5 días DSR (Fig. 9). Tomando en cuenta que en este tiempo el meristemo apical ha terminado su desarrollo y finalizado su crecimiento, se concluye que la presencia de la zona de crecimiento después de 4 días DSR fue detectada únicamente debido al proceso de elongación celular y no por la proliferación de células, es decir el impacto de la elongación de las células no fue significativo para el alargamiento de la raíz (Figs. 1 y 9). La integridad de un meristemo es mantenida tanto por la actividad meristemática del promeristemo como por el número total de células en el meristemo. Así, la pérdida de la actividad meristemática en la raíz primaria de *S. gummosus* puede estar relacionada con la ausencia de un centro quiescente, con un número reducido de células iniciales, o su actividad limitada.

La división celular se refiere a la duplicación de las células, por lo que tomando en cuenta el número de células en el meristemo es posible estimar la cantidad de ciclos celulares que han pasado. El promedio de células en el meristemo de la raíz de *S. gummosus* fue 15 (Fig. 4), dado que las células se dividen de manera exponencial ( $N=2^n$ , donde

N=número de células en el meristemo y n=ciclos celulares), es posible deducir que en este meristemo han pasado 3 ciclos celulares completos (con exactitud 3.8 ciclos celulares) desde el inicio del desarrollo de la raíz, este número coincide con lo reportado en otros trabajos, donde se ha estimado que las células en el meristemo de la raíz de *S. gummosus* pasaron por 2 a 3 ciclos celulares antes de su desaparición (Dubrovsky, 1997a).

La duración del ciclo celular en el meristemo de la raíz primaria de *S. gummosus* fue estimada mediante el Modelo de Ivanov (1994), analizando los cambios en el número de células del meristemo conforme al tiempo (Dubrovsky, 1997a y b). El modelo mencionado considera que cuando no hay división en un meristemo, la mitad de las células salen de él en el transcurso de un ciclo celular. En este caso, es posible estimar la duración del ciclo celular, analizando los cambios en el número de células que quedan en el meristemo. En general este análisis exhibe: 1) que durante el crecimiento determinado las células en el meristemo de *S. gummosus* están pasando no más de 4 ciclos celulares antes de finalizar su actividad proliferativa, y 2) que el ciclo celular de la especie estudiada tuvo una duración aproximada de 12 h (Dubrovsky, 1997a). Este tiempo está dentro del rango de valores obtenidos con diferentes métodos: 14.5 h en promedio -Método de la Colchicina- y 9.7 h -Método de Tasa de Producción Celular- (Dubrovsky, *et al.*, 1996, 1997a). La duración de la actividad meristemática en la raíz primaria de *S. gummosus* es corta, esto puede deberse a que no hay restablecimiento por parte de las células iniciales o están representadas por un número muy pequeño. Tomando en cuenta, que en el presente estudio la dinámica de la disminución del número de células en el meristemo fue similar a lo caracterizado por Dubrovsky (1997a), se concluye que en estos experimentos la duración del ciclo celular fue alrededor de 12 h.

La estimación del tiempo y el número de ciclos celulares junto con la dinámica de la actividad meristemática, confirman que el meristemo de la raíz primaria de *S. gummosus*

presenta un desarrollo determinado, programado para finalizar rápidamente su actividad meristemática después de 3 ciclos celulares y agotarse 60 h DSR. La realización de este programa aparentemente se ve facilitada porque el meristemo es pequeño. Si éste fuera grande la desaparición de la actividad meristemática sería más compleja y tomaría más tiempo. Por tanto, es interesante saber cómo está organizado el meristemo de la raíz primaria de *S. gummosus*, para entender el funcionamiento de su programa genético de desarrollo y crecimiento determinado.

### **3. ORGANIZACIÓN DEL MERISTEMO APICAL DE LA RAÍZ PRIMARIA DE *S. gummosus***

Los meristemos apicales dan origen a todos los tejidos y sistemas de órganos postembriónicos en la planta. No sólo generan las células con que la planta está construida, sino también funcionan como centros de organización de la morfogénesis postembriónica (Steeves y Sussex, 1989). La zona meristemática de la raíz está formada por las células iniciales, sus derivadas y el centro quiescente (Esau, 1985).

En la raíz primaria de *S. gummosus* se observaron los principales conjuntos de tejidos primarios: protodermis, periblema y pleroma (Figs. 10 y 11). A las 48 h DSR, la raíz presentó una estructura más compleja con la identificación de una fila de endodermis y otra de periciclo. El número reducido de filas de cada tejido en la raíz de *S. gummosus* está relacionado con su tamaño pequeño.

Los meristemos apicales de raíz pueden tener dos tipos de estructura: abierta y cerrada (Esau, 1985). En la organización del meristemo apical en *S. gummosus* 12 h después del surgimiento de la radícula (DSR), se observaron células iniciales para cada tejido, característico en un meristemo cerrado. En cambio, 48 h DSR no fue posible distinguir las células que originaron las diferentes filas de cada tejido primario, al igual que en un

meristemo abierto. Al parecer, en *S. gummosus* existe una transición en la organización de su meristemo apical de raíz de cerrada a abierta. Con evidencia en el patrón celular se ha demostrado que algunos meristemos abiertos cambian a cerrados durante el crecimiento de la raíz y que las raíces individuales en una especie difieren en que esto ocurra o no (Clowes, 1981). En el caso de *S. gummosus*, esta transición puede ser consecuencia del programa de desarrollo determinado. De cualquier manera, es importante realizar más observaciones con diferentes técnicas para confirmar que existe un cambio de meristemo cerrado a abierto en *S. gummosus*.

A las 48 h DSR se observó que varias raíces tenían la caliptra desprendida y las que aún presentaban caliptras estaban muy reducidas, compuestas por células grandes; esto puso de manifiesto que las células de la caliptra no se dividen. Como ya fue mencionado, 48 h DSR se observó que el meristemo de la raíz de *S. gummosus* presentó una organización abierta, en este tipo de meristemo las células iniciales producen y mantienen tanto a las células del cuerpo de la raíz como a las células de la caliptra. Tomando en cuenta que: a) la raíz primaria de *S. gummosus* tiene un crecimiento determinado, es decir, su meristemo se agota totalmente 60 h DSR (Figs. 2 y 4), b) la ausencia o reducción de la caliptra 48 h DSR y c) que un meristemo abierto aporta células tanto del cuerpo de la raíz como de la caliptra; se concluye que la caliptra tiene una relación estrecha con el reducido número de células iniciales y su pérdida de actividad meristemática y que posiblemente, el comportamiento de la caliptra esté controlado por la ejecución del programa de desarrollo determinado que sigue la raíz de *S. gummosus*.

Las células iniciales y el centro quiescente tienen la función de conservación y perpetuación o regeneración del meristemo. El desarrollo determinado de la raíz primaria de *S. gummosus*, caracterizado por un corto período de actividad meristemática, dio pauta para

suponer que las células iniciales son pocas y es posible que no exista centro quiescente. En realidad el meristemo de esta especie es pequeño y puede ser que tenga pocas células iniciales, cuya división es bloqueada por algún mecanismo después de un cierto tiempo. Otros estudios sobre la raíz primaria de *S. gummosus*, manifestaron que en algunas raíces está presente una sola célula inicial (Dubrovsky, 1997a, 1997b). Estas observaciones sostienen la hipótesis, sobre la limitación en el tiempo de funcionamiento de las células iniciales; sin embargo, este planteamiento necesita mayor investigación.

Debido a que en el meristemo de la raíz primaria de *S. gummosus* no se tienen evidencias de que exista un centro quiescente, ni se tiene la certeza de que las células iniciales que se han identificado estén fuera o formen parte de un centro quiescente, tales células se han denominado con el término general de promeristemo. El promeristemo está compuesto por todas las células iniciales, incluyendo aquellas que forman el centro quiescente (Clowes, 1959). Comparando a 12 y 48 h DSR las células del promeristemo son más grandes que las del periblema y el pleroma, debido posiblemente a su papel en la producción de células iniciales para los distintos tejidos. Un aspecto interesante en el intervalo de 12 a 48 h DSR es que las células del promeristemo no cambiaron su tamaño, pero sí en número, puesto que a las 12 h DSR se contaron seis células iniciales (tres para la protodermis y el periblema, más tres del pleroma), en cambio 48 h DSR se observaron dieciséis células en el promeristemo, es decir más del doble respecto a 12 h DSR (Figs. 5 y 6). Esto indica que posiblemente, las células de esta región pasaron por un sólo ciclo celular durante este lapso, esto es, se dividieron una sola vez y después crecieron hasta alcanzar su tamaño promedio inicial. Las células del periblema y el pleroma prácticamente duplicaron su tamaño de 12 a 48 h DSR (Tabla I y Figs. 10 y 11). Sin embargo, no es posible que estas células hayan pasado a la zona de elongación durante este lapso, ya que se ha encontrado

que las células epidérmicas elongadas en *S. gummosus* tienen un tamaño promedio de 97.4  $\mu\text{m}$  (Dubrovsky, *et al.*, 1996). Con lo anterior, se confirmó que a 48 h DSR todavía existe actividad proliferativa, es decir meristemo apical. El crecimiento determinado al parecer, es consecuencia de que las células del promeristemo no mantienen su actividad proliferativa, es decir se dividen sólo un cierto número limitado de veces.

#### **4. CORRELACIÓN ENTRE EL CRECIMIENTO DETERMINADO Y LA FORMACIÓN DE RAÍCES LATERALES**

Las raíces laterales se forman a una distancia considerable detrás de la región de crecimiento más activa de la raíz principal, a partir del periciclo, es decir, son de origen endógeno y para emerger deben atravesar los tejidos vivos (Dolan, 1993, McCully, 1975). Durante el crecimiento de la raíz primaria existe alguna relación entre la actividad meristemática y la formación de raíces laterales (Dubrovsky, 1997b). En investigaciones de la raíz primaria de *S. gummosus* se encontró una correlación ( $r=0.904$ ) entre la pérdida de la actividad meristemática y el surgimiento de primordios de raíces laterales (Dubrovsky, 1997b). Esto indica que posiblemente exista una relación general de estos procesos en especies con crecimiento determinado.

En *S. gummosus*, *S. thurberi* y *F. peninsulæ* se observó que 2 o 3 días DSR, el porcentaje de raíces con pelos radicales hasta la punta aumentó simultáneamente con el porcentaje de raíces que presentaron raíces laterales, esto es, existe una relación inversa entre la presencia del meristemo y el inicio del desarrollo de raíces laterales de primer orden en una raíz primaria con crecimiento determinado.

Los resultados obtenidos parecen indicar que la pérdida de la actividad meristemática es un requisito para el surgimiento de raíces laterales, ya que éstas no se presentan antes

del agotamiento del meristemo de la raíz principal, lo que indica que son procesos consecutivos relacionados mediante alguna señal fisiológica. Además, estas plantas posiblemente deben requerir que la expansión de su sistema de raíces ocurra en forma rápida, pues el desarrollo de raíces laterales tras el agotamiento del meristemo ocurren en un tiempo corto, aún en condiciones hídricas óptimas artificiales. El tamaño de la raíz no determina que dichos procesos se realicen, puesto que al parecer, este mecanismo está completamente dirigido por un programa genético.

El presente trabajo confirma la hipótesis planteada en trabajos de Dubrovsky (1997a y b), quien analizó la correlación entre el tiempo de la disminución de la actividad meristemática y el tiempo de la formación de primordios de raíces laterales. En tales estudios, el crecimiento determinado fue propuesto como un activador de la decapitación fisiológica del meristemo que promueve la formación de los primordios de raíces laterales (Dubrovsky, 1997a y b).

## **5. IMPORTANCIA ECOLÓGICA DEL CRECIMIENTO DETERMINADO DE LA RAÍZ PRIMARIA DE *S. gummosus***

Las plantas crecen de manera continua, expandiendo los órganos involucrados en la toma de agua, captura de nutrientes y luz solar mediante la elongación y ramificación de los tallos, la extensión de las hojas y el aumento de la ramificación del sistema de raíz mediante pelos radicales (Taylor, 1997).

En el meristemo apical de la raíz primaria de *S. gummosus*, la formación de las raíces laterales está relacionada directamente con el cese de la actividad meristemática (Dubrovsky, 1997a). El aumento del número de raíces laterales y la disminución del tamaño del meristemo de la raíz primaria son eventos conjuntos, esto indica que el patrón de crecimiento propicia la formación de las raíces laterales y que ambos procesos son importantes para el rápido

establecimiento de la radícula. *S. gummosus* puede utilizarse como modelo útil para conocer la organización y el funcionamiento del meristemo de una planta con crecimiento determinado en relación con sus adaptaciones en un medio ambiente árido.

En las condiciones climáticas del desierto Sonorense, el establecimiento de las plantas tiene que llevarse a cabo rápidamente. Es posible que el crecimiento determinado de una raíz primaria en una planta desértica tenga un carácter adaptativo; con un significado ecológico para la inducción rápida de las raíces laterales y el desarrollo de un sistema de raíz ramificado importante tanto para el anclaje de la radícula, como para la absorción de agua y minerales en los cortos períodos hídricos óptimos.

En *S. gummosus*, la raíz primaria deja de actuar como raíz principal después de un corto período, debido a su crecimiento determinado. Posteriormente, una de las raíces laterales adquiere el papel de raíz principal. Algunas raíces laterales de esta planta al igual que la raíz primaria presentan un crecimiento determinado (Dubrovsky 1997a). También, se observó que *S. gummosus* expande su sistema de raíz siempre que las condiciones son favorables para aprovechar al máximo los recursos que favorecen su crecimiento. El sistema de raíces de *S. gummosus* está formado por raíces delgadas, someras y sumamente ramificadas, según pudo apreciarse en campo (observaciones personales). Cualquier planta puede presentar un patrón de crecimiento determinado bajo condiciones físicas críticas.

El análisis de la organización del meristemo apical y la dinámica de la pérdida de la actividad meristemática confirmó que la raíz crece durante un período corto, siguiendo un patrón irreversible. Esto apoya la suposición de que el crecimiento determinado de la especie estudiada, representa un programa genético de desarrollo elaborado durante la historia natural de la especie. La comprensión de la importancia ecológica del programa genético en *S. gummosus* resulta interesante dadas las condiciones áridas en las que se establece.



*S. gummosus* es el primer caso de crecimiento determinado reportado en una raíz primaria (Dubrovsky, 1997a). Este tipo de crecimiento puede considerarse como un comportamiento estable y reproducible, ya que se presentó sin excepción, en todas las raíces primarias de *S. gummosus*, *S. thurberi* y *F. peninsulae* probadas en diferentes condiciones en este y otros estudios (Dubrovsky, 1996a, 1997a, 1997b). Por ello se concluye que el crecimiento determinado es el patrón de crecimiento normal de dichas especies. Sin embargo, este tipo de crecimiento no es exclusivo de la familia Cactaceae, ya que se presenta en otras familias, por ejemplo en Pteridofitas (MacLeod, 1991; Fosket, 1994); tampoco es un patrón de crecimiento típico para todas las raíces de cactáceas columnares, puesto que *Pachycereus pringlei* (cardón pelón) ha mostrado un patrón de crecimiento indeterminado (Dubrovsky, et al., 1996).

## CONCLUSIONES

1. La pérdida de la actividad meristemática ocurre rápidamente hasta el agotamiento del meristemo. El crecimiento determinado de la raíz es:
  - a. Estable,
  - b. irreversible e
  - c. independiente de los diferentes regímenes de temperatura y de los sustratos probados.
  
2. El meristemo apical de la raíz primaria de *Stenocereus gummosus* es relativamente pequeño, su estructura aparentemente cambia de cerrada a abierta de 12 a 48 h después del surgimiento de la radícula.
  
3. El crecimiento determinado de la raíz primaria de *Stenocereus gummosus*:
  - a. Es resultado del agotamiento del meristemo, implica que las células están programadas para pasar pocos ciclos de división celular y después diferenciarse,
  - b. promueve el desarrollo de raíces laterales y puede ser considerado como una decapitación fisiológica, y
  - c. funciona como un mecanismo para el rápido establecimiento de plántulas en los cortos períodos de condiciones hídricas óptimas en los ambientes áridos.

## REFERENCIAS

- Arias, S.M. 1993. Cactáceas: Conservación y diversidad en México. Rev. Soc. Mex. Hist. Nat. Vol. Especial Diversidad Biológica en México. (44):109 -115.
- Baluska, F., D. Volkmann, y P.W. Barlow. 1996. Specialized zones of development in roots. Plant Physiol. 112:3-4.
- Baum, S.F. y T.L. Rost. 1996. Root apical organization in *Arabidopsis thaliana* 1. Root cap and protoderm. Protoplasma 192:178 -188
- Bertyn, G.P. y J.P. Miksche. 1976. Botanical Microtechnique and Cytochemistry. The Iowa State University Press. E.U.A. 326 pp.
- Bravo-Hollis, H. 1978. Las Cactáceas de México. 2a. edición. UNAM. México. Vol I. 743 pp.
- Bravo-Hollis, H y H. Sánchez-Mejorada. 1991. Las Cactáceas de México. UNAM. México. Vol III. 643p.
- Britton, N.L. y Rose, J.N. 1963. The Cactaceae. Descriptions and Illustrations of Plants of the Cactus Family. Dover Publications, Inc. New York. Vol. II. 116 -118.
- Boke, N.H. 1979. Root glochids and root spurs of *Opuntia arenaria* (Cactaceae) Amer.J.Bot. 66(9):1085 -1092.
- Clark, G. 1981. Staining Procedures. 4th. edition. Williams & Wilkins. E.U.A. 512 pp.
- Clowes, F.A.L. 1959. Apical meristems of roots. Biological Reviews (34):501-529.
- Clowes, F.A.L. 1981. The difference between open and closed meristems. Ann. Bot. 48:761- 767.
- Dolan, L., K. Janmaat, V. Willemsen, P. Linstead, S. Poethig, K. Roberts y B. Scheres. 1993. Cellular organisation of the *Arabidopsis thaliana* root. Development 119:71- 84.
- Dubrovsky, J.G. 1996a. Crecimiento determinado de la raíz de pitaya agria (*Stenocereus gummosus*) y su adaptación a condiciones áridas del Desierto Sonorense. Memoria 3er. Encuentro Regional sobre Botánica Económica. Área Interdisciplinaria de Ciencias Agropecuarias. Depto. de Agronomía. UABCS. 18 -25.
- Dubrovsky, J.G. 1996b. Seed hydration memory in Sonoran Desert cacti and its ecological implication. American Journal of Botany 83(5):624-632.
- Dubrovsky, J.G., L. Contreras-Burciaga y V.B. Ivanov. 1996. Estimación del potencial de crecimiento de cactáceas mediante el análisis de la duración del ciclo celular para su aprovechamiento y su cultivo. Memoria 3er. Encuentro Regional sobre Botánica Económica. Área Interdisciplinaria de Ciencias Agropecuarias. Depto. de Agronomía. UABCS. 10 -17.
- Dubrovsky, J.G. 1997a. Determinate primary-root growth in seedlings of Sonoran Desert Cactaceae; its organization, cellular basis, and ecological significance. Planta 203: 85 -92
- Dubrovsky, J.G. 1997b. Determinate primary root growth in *Stenocereus gummosus* (Cactaceae), its organization and role in lateral root development. En Altman y Y. Waisel (eds.) Biology of Root Formation and Development. Plenum Publishing Corporation. 13 -20.
- Esau, K. 1977. Anatomy of Seed Plants. 2nd edition. John Wiley & Sons. Nueva York. E.U.A. 550 pp.

- Esau, K. 1985. Anatomía Vegetal. 3a edición. Eds. Omega. Barcelona. 779 pp.
- Fosket, D.E. 1994. Plant Growth and Development: A Molecular Approach. San Diego, California E.U.A. Academic. 580 pp.
- Freeman, T.P. 1970. The developmental anatomy of *Opuntia basilaris*. II. Apical meristem, leaves, areoles, glochids. Amer. J. Bot. 57:616-622.
- Fujie, M., H. Kuroiwa, T. Suzuki, S. Kawamo y T. Kuroiwa. 1993. Organelle DNA synthesis in the quiescent center of *Arabidopsis thaliana* (Col.) Journal of Experimental Botany. 44(261):689-693
- Gibson, A.C. y P.S. Nobel. 1986 The Cactus Primer. Harvard University Press. E.U.A. 128 pp.
- Gifford, E. M. 1983. Concept of apical cells in bryophytes and pteridophytes. Ann. Rev. Plant Physiol. 34:419-440.
- Gladish, D.K. y T.L. Rost. 1993. The effects of temperature on primary root growth dynamics and lateral root distribution in garden pea (*Pisum sativum* L. c.v. "Alaska"). Env. Exp. Bot. 33:243-258.
- Green, P.B. 1976. Growth and cell pattern formation on an axis. Critique of concepts, terminology, and modes of study. Bot. Gaz. 137(3):187-202.
- Hoagland, D.R., and D.I. Aron. 1938. The water culture method for growing plants without soil. University of California Agricultural Experimental Station Circular # 347.
- Ivanov, V.B. 1981. Cellular basis of root growth. Sov. Sci. Rev. D2:365-392.
- Ivanov, V.B. 1987. Reactive dyes in biology. Overseas Publ. London, 1987.
- Ivanov V.B. 1994. Root growth responses to chemicals. Sov. Sci. Rev. D. Physicochem. Biol. 13:1-70.
- Kerk, N.M. y L.J. Feldman. 1995. A biochemical model for the initiation and maintenance of the quiescent center: implications for organization of root meristems. Development 121:2825-2833.
- León de la Luz J.L., y R. Coria (eds.). 1992. Flora Iconográfica de Baja California Sur. Centro de Investigaciones Biológicas de Baja California Sur, A.C. 156 pp.
- León de la Luz J.L., y R. Domínguez-Cadena. 1991. Evaluación de la reproducción por semilla de la pitaya agria (*Stenocereus gummosus*) en Baja California Sur. Acta Botánica Mexicana 14:75-87.
- León de la Luz J.L., R. Domínguez-Cadena, M. Cruz-Estrada y R. Rodríguez-Estrella. 1995. Reproductive phenology of *Stenocereus gummosus* (Englem.) Gibson & Horak. Implications for its cultivation. Genetic Resources and Crop Evolution 42:61-67.
- MacLeod, R.A. 1991. The Root Apical Meristem and its Margins. Waisel Y., A. Eshel y U. Kafkafi. (eds.) 1991. Plant Roots. The Hidden Half. Marcel Dekker, Inc. Nueva York. 75 -101.
- McCully, M.E. 1975. The development of lateral roots. En: Torrey, J.G. y Clarkson, A.T. (eds.). Development and Function of Roots. Academic Press. London. 105 -124
- Nobel, P.S. 1988. Environmental biology of agaves and cacti. Cambridge University Press. Nueva York. 270 pp.

- Nobel, P.S. y E. Pimienta-Barrios. 1994. Monthly Stem Elongation for *Stenocereus queretaroensis* Relationships to Environmental Conditions, Net CO<sub>2</sub> Uptake and Seasonal Variation in Sugar Content. Environmental and Experimental Botany 35: 17-24
- Norenburg, J.L., y J.M. Barret. 1987. Steedman's polyester wax embedment and de-embedment for combine light scanning electron microscopy. Journal of Electron. Microscopy Technique 6:35-41
- Peterson, R.L. 1992. Adaptations of root structure in relation to biotic and abiotic factors. Can. J. Bot. 70:661-675.
- Pimienta-Barrios, E. y P.S. Nobel. 1994. Pitaya (*Stenocereus* spp., Cactaceae): an ancient and modern fruit crop of Mexico. Economic Botany 48:76-83
- Pimienta-Barrios, E. y P.S. Nobel. 1995. Reproductive Characteristics of Pitayo (*Stenocereus queretaroensis*) and their Relationships with Soluble Sugars and Irrigation. J. Amer. Soc. Hort.Sci. 120(6):1082-1086.
- Pimienta-Barrios, E., C. Robles M. y A. Domínguez de la Torre. 1995. Estrategias fisiológicas y reproductivas de adaptación del pitayo a la aridez. Ciencia 46:339 -349.
- Rost, T.L. y S.F. Baum. 1988. On the correlation of primary root length, meristem size and protoxylem tracheary element position in pea seedlings. Amer. J. Bot. 75:414-424.
- Rost, T.L. , T.J. Jones, y R. H. Falk. 1988. Distribution and Relationship of Cell Division and Maturation Events in *Pisum sativum* (Fabaceae) Seedling Roots. Amer. J. Bot. 75(10):1571-1583.
- Rost, T.L. 1994. Root tip organization and the spatial relationships of differentiation events. En Iqbal, M. (ed.) Growth Patterns in Vascular Plants. Dioscorides Press. Portland, Oregon. 59-76.
- Salisbury, F.B. y C.W. Ross. 1994. Fisiología Vegetal. Grupo editorial Iberoamérica. México. 682 pp.
- Schiefelbein, J.W., J.D. Masucci y H. Wang. 1997. Building a Root: The control of patterning and morphogenesis during root development. The Plant Cell 9:1089 -1098.
- Scheres, B., H. Wolkenfelt, V. Willemsen, M. Terlouw, E. Lawson, C. Dean y P. Weisbeek. 1994. Embryonic origin of the *Arabidopsis* primary root and root meristem initials. Development 120:2475 -2487.
- Shreve, F. e I.L. Wiggins. 1964. Vegetation and Flora of the Sonoran Desert. Vol. I y II. Stanford University Press. Standford, California. 1740 pp.
- Steeves, T.A. y I.M. Sussex. 1991. Patterns in Plant Development. 2a edición. Cambridge University Press. E.U.A. 388 pp.
- Taylor, C.B. 1997. Plant vegetative development: from seed and embryo to shoot and root. The Plant Cell 9:981-989.
- Vamey, G.T. y M.E. McCully. 1991. The branch roots of Zea. II Developmental loss of the apical meristem in field-grown roots. Nota Physiol. 118, 535-546.
- Webster P.L. and R.D. MacLeod. 1980. Characteristics of root apical meristem cell population kinetics: A review of analyses and Concepts. Environmental and Experimental Botany 20:335-358.
- Zar, J.H. 1984. Biostatistical analysis. 2a. Edición. Prentice Hall. New Jersey. 781 pp.