

184



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ANATOMIA FISIOLÓGICA DE PLANTULAS DE CACTACEAS BAJO ESTRES HIDRICO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G O

P R E S E N T A :

ULISES YUNUEN ROSAS LOPEZ



DIRECTOR DE TESIS: DRA. MARGARITA BOLLAZO ORTEGA



TESIS CON FALLA DE ORIGEN

2002

FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ENOLAR



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 DE
MÉXICO

DRA. MARÍA DE LOURDES ESTEVA PERALTA
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito:
Anatomía fisiológica de plántulas de cactáceas bajo estrés hídrico.

realizado por Ulises Yunuén Rosas López

con número de cuenta 9537214-5 , quien cubrió los créditos de la carrera de:
Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

A t e n t a m e n t e

Director de Tesis
Propietario

Dra. Margarita Collazo Ortega

Propietario

Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán

Propietario

Dra. Alma Delfina Lucía Orozco Segovia

Suplente

Dra. Ana Laura López Escamilla

Suplente

M. en C. Mariana Rojas Aréchiga

FACULTAD DE CIENCIAS
U N A M.

Consejo Departamental de Biología

M. en C. Juan Manuel Rodríguez Chávez



DEPARTAMENTO
DE BIOLOGIA

Esta tesis se realizó en el Laboratorio de Desarrollo en Plantas de la Facultad de Ciencias, dentro del Taller titulado "Desarrollo y fisiología de las estructuras reproductoras en la familia Cactaceae" impartido por los profesores:

Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán

Dra. Margarita Collazo Ortega

Dra. Sonia Vázquez Santana

M. en C. Silvia Espinosa Matías

M. en C. José Ricardo Wong

Biol. Citlali Yuriria Núñez Mariel

Y contó con apoyo económico de la Fundación TELMEX y de la Universidad Nacional Autónoma de México a través del Programa de Becas de Tesis de Licenciatura (PROBETEL).

**a Trilce Varinia Margarita,
mi *Ángel Guardián***

a Jay

a Georgina, Reyna y Rolando ... los mejores



Victor Jara y Salvador Allende
Guayasamín

“Estoy pensando ... y no sé por qué”
anónimo

**“La madre
busca/sueña
en su hijo el agua.
Es hermosa.
De noche
canta.”**
Rolando Rosas

**“Por la tinta la palabra brilla,
se humedece,
mantiene la frescura de la herida..”**
Vicente Quirarte

**“La tierra, el agua, el aire, el éter,
la mente, la inteligencia y el ego falso -todos
éstos ocho en conjunto-
comprenden Mis energías materiales
separadas.”**
Bhagavad-gī tā:7:4

PRESENTACIÓN

Las cactáceas han recibido especial atención debido a la gran importancia que tienen en México por su diversidad y por lo amenazadas que se encuentran sus poblaciones. Hasta hace algunos años la mayoría de los trabajos tenían por objeto describir nuevas especies, detallar su anatomía, reportar distribuciones, hacer estudios sistemáticos, documentar usos tradicionales, etc. Recientemente se ha dado un cambio hacia la integración de los conocimientos que se tienen acerca de las cactáceas para tratar de explicar el papel que tienen en el contexto ecológico, sus patrones reproductivos, sus mecanismos de evolución (especiación, sistemas sexuales, influencias del hombre en la diferenciación de poblaciones, etc.), su micropropagación y fisiología. En este último apartado han surgido muy diversas líneas dentro del campo de la biomecánica, fisiología de la germinación, genética del metabolismo ácido de las crasuláceas, desarrollo de raíces, respuestas al estrés, etc.

La mayoría de los trabajos acerca de la fisiología de las cactáceas (y en general de las suculentas) se han llevado a cabo en plantas adultas y pocos estudios se han enfocado a las plántulas. El estudio de los procesos fisiológicos y anatómicos que suceden durante las etapas de plántula puede ofrecer información muy importante para explicar los patrones de establecimiento y supervivencia, y dar una mejor interpretación a lo que sucede en etapas adultas.

Este trabajo está organizado en cinco capítulos. En el Capítulo I se da una introducción a la fisiología de las cactáceas como respuesta a las condiciones ambientales, las estrategias y respuestas que se han visto con relación a semillas, germinación y primeras etapas de desarrollo de las plantas, así como una introducción general sobre aspectos teóricos de la respuesta de las plantas al ambiente, en especial al estrés hídrico; y se plantea el proyecto para estudiar el efecto del estrés hídrico en la fisiología y anatomía de las plántulas de cactáceas. En el Capítulo II se describen las primeras pruebas de germinación, crecimiento de las plántulas y condiciones experimentales que se aplicaron a las especies que se estudian en los Capítulos III y IV. El Capítulo III es la primera parte del experimento, donde se evalúan variables metabólicas de las plántulas después de haber estado expuestas a un estrés hídrico. En el Capítulo IV se evalúan variables anatómicas de las plántulas, y en el Capítulo V se discuten los resultados y se

analizan las implicaciones ecológicas y fisiológicas, haciendo mayor énfasis en los Capítulos III y IV.

Espero que este trabajo sea útil para entender el desarrollo de la tolerancia al estrés hídrico y sirva como base metodológica para el estudio de la fisiología de las plántulas de las cactáceas desde un punto de vista morfofisiológico, e incentive a explorar nuevos problemas fisiológicos que ayuden a explicar las estrategias adaptativas de la fisiología de las cactáceas, así como la sobrevivencia de las plántulas en ambientes áridos.

Ulises Yunuén Rosas López

ÍNDICE DE CONTENIDO

PRESENTACIÓN	i
ÍNDICE DE CONTENIDO	iii
RESUMEN	vii
CAPÍTULO I. Introducción general	1
Introducción	1
Las cactáceas	2
Fisiología del estrés	3
Potencial hídrico	5
Las estrategias de germinación y establecimiento de las cactáceas	6
Nodricismo	8
El metabolismo de las plántulas de las cactáceas	9
El cultivo <i>in vitro</i> de las especies en estudio	9
Objetivos	10
Objetivo general	10
Objetivos particulares	10
Metodología general	11
Las especies estudiadas:	12
<i>Polaskia chichipe</i>	12
<i>Echinocactus platyacanthus</i>	13
Las zonas de colecta	13
Referencias	14
CAPÍTULO II. Condiciones de germinación de las semillas y crecimiento temprano de las plántulas de <i>Polaskia chichipe</i> y <i>Echinocactus platyacanthus</i>.	19
Introducción	19
Latencia	19
Tratamientos de escarificación	20
Escarificación química y mecánica	20
Memoria de hidratación de la semilla	21
Objetivos	22
Objetivo general	22
Objetivos particulares	22
Metodología	23
Ensayos de germinación con tratamientos de escarificación	23
Ensayos de germinación <i>in vitro</i>	23
Ensayo de transferencia a medios líquidos <i>in vitro</i>	23

Resultados y discusión	24
Ensayos de germinación con tratamientos de escarificación	24
Ensayos de germinación <i>in vitro</i>	
Ensayo de transferencia a medios líquidos <i>in vitro</i>	28
Conclusiones	29
Referencias	30
CAPÍTULO III. Evaluación de las tasas de intercambio de CO₂ y de vapor de agua en plántulas de <i>Polaskia chichipe</i> y <i>Echinocactus platyacanthus</i>.	
Introducción	33
Captura de carbono y fotosíntesis	33
Transpiración	34
Metabolismo ácido de las crasuláceas	35
Estudios ecofisiológicos del CAM en cactáceas	36
Modificación de CAM en cultivos <i>in vitro</i>	37
Metabolismo de las plántulas de cactáceas	37
Objetivo	38
Metodología	38
Material biológico	38
Medición de las tasas de intercambio de CO ₂ y de vapor de agua	40
Resultados y discusión	41
Tasa de intercambio de CO ₂	41
Tasa de intercambio de vapor de agua	47
Conclusiones	52
Referencias	52
CAPÍTULO IV. Evaluación de variables histológicas en <i>Polaskia chichipe</i> y <i>Echinocactus platyacanthus</i>.	55
Introducción	55
Anatomía general de las cactáceas	55
Anatomía de las plántulas de las cactáceas	57
Adaptaciones anatómicas al estrés hídrico	58
Colapsabilidad de la pared celular	58
El efecto del estrés hídrico en las raíces	59
Relación superficie-volumen	60
Objetivo	61
Metodología	61
Material biológico	61
Estudio anatómico del brote y de la raíz	62

Resultados y discusión	64
Morfología externa de las plántulas	64
Anatomía de las plántulas	67
Colapsabilidad de las paredes celulares	79
Superficie, volumen y relación superficie-volumen	79
Perímetro, área transversal y relación perímetro-área	82
Número, área y capacidad de conductora teórica (CCT) total de los vasos	84
Número, área y capacidad de conductora teórica (CCT) de vasos por categoría de tamaño	86
Relación área transversal de cilindro vascular-córtex en la raíz	90
Adquisición de la tolerancia a la sequía	90
Conclusiones	92
Referencias	92
CAPÍTULO V. Discusión general.	95
Variación genética	95
La anatomía fisiológica de las plántulas	96
Conclusiones	102
Referencias	102
AGRADECIMIENTOS	105
APÉNDICE I. Formulación de los medios de cultivo.	107
APÉNDICE II. Algunos datos sobre los frutos de <i>P. chichipe</i> y <i>E. platyacanthus</i>.	108
APÉNDICE III. Fórmulas de los cálculos.	109

RESUMEN

En el establecimiento y desarrollo de cactáceas que habitan las zonas áridas, la etapa más sensible es la de plántula debido a que en este periodo están sujetas a condiciones estresantes como son la depredación, la alta radiación solar, las temperaturas extremas y la baja disponibilidad de agua. Por ello, han desarrollado ciertas estrategias para hacer frente a algunas de estas condiciones de estrés. Por ejemplo: los requerimientos específicos para la germinación en semillas y en plántulas, el comportamiento metabólico durante las primeras etapas de crecimiento, diferentes respuestas a temperaturas extremas, etc. La mayoría de los reportes acerca de las aclimataciones o adaptaciones de las suculentas, en especial de las cactáceas, se han hecho en plantas adultas; por ésto, es necesario estudiar los procesos fisiológicos y anatómicos que suceden durante la etapa de plántula y así dar una mejor interpretación a lo que sucede en la etapa adulta. El objetivo de este trabajo fue estudiar las plántulas de cactáceas de la Subfamilia Cactoideae *Echinocactus platyacanthus* Link y Otto (Tribu Cereae) y *Polaskia chichipe* (Goss.) Backeberg (Tribu Pachycereeae) en respuesta al estrés hídrico, y cómo es que éste afecta algunas variables fisiológicas y anatómicas.

Las plántulas fueron obtenidas a partir de semilla. Las semillas de *P. chichipe* no recibieron escarificación y las de *E. platyacanthus* se escarificaron químicamente con ácidos fuertes. Se sembraron asépticamente en medio MS 50% y en agar 1%. A los 35 días de edad las plántulas se trasplantaron a medio líquido para simular dos condiciones de disponibilidad de agua: Control (MS 50%, $\psi_H = -0.197$ MPa) y Estrés (MS 50% - manitol, $\psi_H = -1.519$ MPa). A los 42, 70 y 98 días de edad se realizaron las mediciones de metabolismo mediante un analizador infrarrojo de gases de sistema abierto y diferencial (*P. chichipe* $n=6$, *E. platyacanthus* $n=9$) a dos horas del día: de las 1200 a las 1400 y de las 2100 a las 2300 horas, se calcularon las tasas de intercambio de CO_2 y de vapor de agua. Las dimensiones de las plántulas fueron calculadas asumiendo que su forma geométrica es cilíndrica. Se utilizó el proceso microtécnico para la obtención de secciones transversales de brote y raíz; y se realizaron mediciones; se calculó en el brote: la relación superficie-volumen (S/V), perímetro-área transversal (P/A), número de vasos, área de vasos, capacidad conductora teórica de vasos (CCT); y en la raíz la proporción de área transversal de cilindro vascular-córtex.

Durante los primeros 98 días de edad el estrés hídrico no afectó a las tasas de intercambio de CO_2 y de vapor de agua. Tampoco se hizo evidente un comportamiento fotosintético de tipo C_3 o CAM inducido por la edad de las plántulas o por el estrés hídrico. Las plántulas de *P. chichipe* presentaron una correlación significativa entre la tasa de intercambio vapor de agua y la tasa de intercambio de CO_2 .

Respecto a la anatomía, durante los primeros 98 días de edad en el brote no hubo distinción entre parénquima clorofílico y de reserva. Se observó el fenómeno de colapsabilidad de las paredes celulares. Se obtuvo que la relación S/V de las plántulas tiende a ser constante durante los primeros 98 días de edad y se incrementa por la condición de estrés hídrico. Parece ser que la S/V, P/A, el número, tamaño y CCT de vasos son variables importantes en la adquisición de la tolerancia a la sequía. Se sugiere que en plántulas de estas edades no existe una relación directa entre las modificaciones del metabolismo en las plántulas y los cambios en la anatomía provocados por el estrés hídrico. Se propone que el mantenimiento del transporte en el xilema son probables adaptaciones importantes en la tolerancia al estrés hídrico en etapas de plántula.

CAPÍTULO I

Introducción general

“... y el rocío se cuaja en el cielo antes que llegue a caer sobre la tierra... allá llueve poco, a mediados de año llegan unas cuantas tormentas que azotan la tierra y la desgarran dejando nada más el pedregal flotando encima del tepetate...pero después de diez o doce días se van y no regresan sino al año siguiente y a veces se da el caso de que no regresen en varios años.”

Luvina-Juan Rulfo

INTRODUCCIÓN

Las poblaciones de plantas perennes constantemente se tienen que renovar con la incorporación de nuevos individuos, generados en forma vegetativa o sexual. La reproducción vegetativa es importante para elevar rápidamente los parámetros poblacionales con un genotipo ya probado y exitoso, pero no deja lugar a la variabilidad. Generalmente la semilla es el producto de la reproducción sexual en las angiospermas y posee información genética de los progenitores, con la ventaja de haber sido recombinada, lo cual abre un abanico de posibilidades fenotípicas de plasticidad y nuevas oportunidades de éxito individual. Sin embargo, el reclutamiento de nuevos individuos por esta vía puede ser un evento muy costoso energéticamente y poco exitoso. En zonas áridas las estrategias de crecimiento y desarrollo tienen que ser lo más eficientes posible, debido a que las plantas se encuentran sujetas a múltiples tipos de estrés (déficit hídrico, exceso de luz, temperaturas extremas, depredación, etc.), que hacen complejas las relaciones de la planta con su ambiente. Al respecto, se ha visto que las cactáceas son muy sensibles en las primeras etapas de desarrollo y el establecimiento de nuevos individuos es nulo en muchos años (Turner *et al*, 1966, 1969; Steenbergh y Lowe, 1969).

No obstante, se ha observado que las cactáceas presentan estrategias indirectas para asegurar que: las semillas germinen en un lugar seguro sin depredación, con los recursos suficientes para su establecimiento y que las plántulas escapen a esta etapa crítica en la estructura de edades (Franco y Nobel, 1992; Altesor *et al*, 1992; Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000).

Algunos autores sugieren que estos mecanismos están íntimamente ligados a las formas de vida adultas de estas suculentas (Nobel, 1984; Rojas Aréchiga-Vázquez-Yanes, 2000). De ahí la importancia de explorar esas propuestas y estudiar la fisiología de las cactáceas desde el momento de la germinación, hasta el momento

del establecimiento de las plántulas, así como el efecto de los factores ambientales en estos eventos.

Es por eso que en este capítulo se revisan los aspectos más importantes del estrés en general, así como las estrategias de las cactáceas para asegurar que la descendencia tenga oportunidad de establecerse en lugares propicios para la germinación y explotar los recursos, haciendo especial énfasis en el evento de la germinación, los factores que la afectan, las implicaciones ecofisiológicas, el desarrollo, el reclutamiento de nuevos individuos o plántulas, y aspectos generales de la fisiología de las plántulas de cactáceas.

Las cactáceas

Las cactáceas son una familia de plantas endémicas de América que habitan en su mayoría zonas áridas y semiáridas de la República Mexicana, ocupando ambientes cálidos húmedos o templados (Arias, 1993). Algunos autores, como Bravo-Hollis (1978), sugieren que cerca del 60% del territorio nacional está ocupado por ambientes áridos y semiáridos, lo que realza la importancia de conocer los recursos naturales de estas zonas.

Se reconocen dos grandes centros de diversidad para la familia Cactaceae: Sudamérica y México, este último con poco más del 50% del total de especies que tiene la familia, colocándolo como el país más importante en diversidad de cactáceas, con un índice de endemismo a nivel genérico del 35% y a nivel específico del 84% (Arias, 1993). No obstante el 35% del total de especies de cactáceas está en peligro de extinción, incluyendo 197 especies mexicanas (Arias, 2000).

Las poblaciones naturales de cactáceas sufren las presiones por actividades humanas (deforestación, agricultura, colecta de plantas, etc.). La colecta de plántulas o juveniles de diferentes especies de esta familia con el fin de comercializarlas como plantas de ornato altera las poblaciones, eliminando las plantas de menor edad más pequeñas poniendo así en serio peligro la permanencia de las poblaciones en un futuro. De allí surge la importancia de programas de conservación que incluyan actividades de propagación a partir de semilla (Álvarez y Montaña, 1997), y el interés de conocer los patrones de comportamiento en la germinación de las cactáceas con la promoción de técnicas de cultivo sencillas para un mejor aprovechamiento del recurso que contribuya a la disminución del deterioro que causan las colectas clandestinas (Arias, 2000). Aunque es ambiciosa la posibilidad de regenerar poblaciones naturales de cactáceas, no se descarta que el conocimiento de los mecanismos que regulan la germinación y establecimiento de plántulas pueda servir como herramienta para

la propagación y la reducción del impacto que tienen las poblaciones humanas sobre esta familia.

Fisiología del estrés

Se define estrés como cualquier factor biótico o abiótico que reduce la velocidad de algún proceso fisiológico, por debajo de la que la planta podría mantener en condiciones óptimas (Lambers *et al*, 1998), o como un conjunto de condiciones que pueden causar un cambio aberrante en los procesos fisiológicos, que da como resultado un daño (Nilsen y Orcutt, 1996), o como un cambio en la fisiología que ocurre cuando las especies se someten a cambios extremadamente desfavorables sin que necesariamente represente una amenaza, pero que induce una respuesta de alarma (Larcher, 1991). En muchos casos el estrés se mide en relación al crecimiento (acumulación de biomasa) o al proceso de asimilación primario (toma de CO₂ y minerales), los cuales están relacionados con su crecimiento total (Taiz y Zeiger, 1991).

Entre las condiciones ambientales que causan daño están la sequía, las altas y bajas temperaturas, la excesiva salinidad del suelo, el inadecuado suministro de minerales en el suelo, y la inadecuada cantidad y calidad de luz (Buchanan *et al*, 2000).

El estrés dispara un rango amplio de respuestas, desde la expresión génica alterada y cambios en el metabolismo celular, hasta cambios en las tasas de crecimiento y productividad (Buchanan *et al*, 2000).

Los cambios en el metabolismo y en el desarrollo inducidos por el estrés pueden ser atribuidos a patrones de alteración de la expresión génica; una respuesta al estrés se inicia cuando la planta lo reconoce a nivel celular, pero se sabe poco al respecto. Las evidencias que se tienen indican que la regulación de las respuestas al estrés involucran hormonas (especialmente ácido abscísico, ácido jasmónico y etileno) y mensajeros secundarios como Ca²⁺. El reconocimiento del estrés activa rutas de señales de transducción que transmiten información entre las células y a través de la planta. Fundamentalmente, los cambios en la expresión génica que ocurren en las células son integrados en una respuesta de toda la planta, la cual puede modificar el crecimiento y desarrollo, e inclusive, las capacidades reproductivas. La duración y la severidad del estrés dictaminan la escala y duración de la respuesta (Buchanan *et al*, 2000).

Se reconocen tres distintas escalas de tiempo de acuerdo al tipo de respuesta de las plantas al estrés (Figura I-1): respuesta inmediata al estrés, aclimatación y adaptación (Lambers *et al*, 1998).

La respuesta inmediata al estrés consiste en una rápida reducción de uno o varios procesos fisiológicos, y ocurre en escalas de tiempo que van desde segundos hasta días (Lambers *et al*, 1998), tiempo en los cuales las plantas hacen manifiesta su resistencia al estrés. La resistencia o sensibilidad al estrés depende de las especies, y del estado de desarrollo de las plantas (Buchanan *et al*, 2000). Si la resistencia se incrementa como resultado de la exposición al estrés, se dice que la planta está aclimatada (Taiz y Zeiger, 1991), término que se puede definir como el ajuste homeostático a través de cambios en la actividad o síntesis de nuevos constituyentes bioquímicos (Lambers *et al*, 1998).

La aclimatación debe distinguirse de la adaptación debido a que esta última se determina a nivel genético como resistencia adquirida a través de varias generaciones (Taiz y Zeiger, 1991), y por ser una mejora evolutiva que aumenta la adecuación al ambiente de una población de organismos (Buchanan *et al*, 2000).

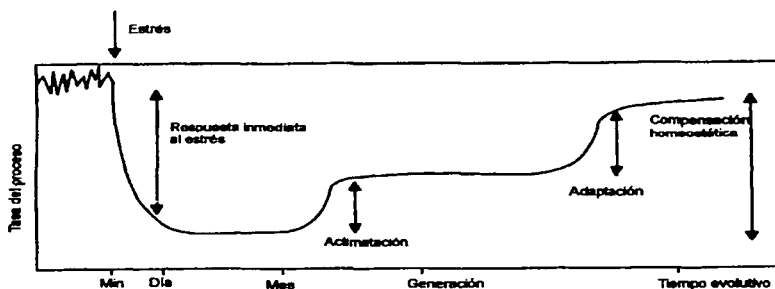


Figura 1-1. Tiempo típico de respuesta de la planta al estrés ambiental, modificado de Lambers *et al*. (1998).

Los mecanismos de resistencia al estrés hídrico pueden ser agrupados, en general, en tres categorías: los que posponen la desecación (habilidad de mantener los tejidos hidratados), la tolerancia a la desecación (habilidad de mantener la actividad fisiológica aún cuando los tejidos están deshidratados) y la que presentan las plantas para evadir la sequía, completando su ciclo de vida durante la temporada de lluvias antes de que ocurra nuevamente una sequía (Taiz y Zeiger, 1991). Ninguna de estas categorías es excluyente, de hecho la mayoría de los mecanismos individuales son dependientes de otros mecanismos para resolver el problema de la limitación de agua. De igual manera la sensibilidad al estrés

hídrico varía para los diferentes procesos (fotosíntesis, transpiración, crecimiento, etc.) y las diferentes etapas del ciclo de vida de las plantas (Nilsen y Orcutt, 1996).

Entre las plantas que posponen la desecación están las ahorradoras de agua y las gastadoras de agua. Las ahorradoras de agua la usan conservadoramente, preservando un poco en el suelo para su posterior uso durante el ciclo de vida (como las cactáceas), mientras que las gastadoras de agua la consumen sustancialmente (Taiz y Zeiger, 1991) gracias a que desarrollan sistema radicales muy profundos.

En las plantas que son ahorradoras de agua, la tolerancia a la sequía está típicamente caracterizada por un conjunto de respuestas que incluyen: hojas pequeñas con tendencia a la orientación vertical, baja conductancia hidráulica del xilema, una capacidad relativamente alta de acumular solutos para mantener una elasticidad tisular alta que se expresa como mantenimiento de la turgencia y cierre estomático a potenciales hídricos bajos (Smith *et al.*, 1997). Respecto a la última respuesta, Jordan y Nobel (1979) reportan que las suculentas sólo soportan un potencial osmótico de -1.6 MPa, como en el caso de las hojas de *Agave deserti* que se marchitan irreversiblemente después de ese umbral

Potencial Hídrico

Los fisiólogos vegetales usan el término potencial hídrico (ψ_H) para referirse a la energía libre contenida o potencial químico de las moléculas de agua en el suelo, en la planta, en las células y en la atmósfera (Kramer, 1974). En las plantas el potencial hídrico es una suma de varios componentes de potenciales:

$$\psi_H = \psi_p + \psi_s + \psi_g + \psi_m$$

El potencial de soluto (ψ_s) está determinado por la cantidad de partículas disueltas en el agua. El potencial de presión (ψ_p) es el reflejo de las fuerzas físicas que se ejercen sobre el agua desde su ambiente. El potencial gravitacional (ψ_g) sólo es sustancial cuando el agua es transportada sobre distancias verticales de más de 5 a 10 metros, por lo cual, el término puede ser omitido de la fórmula general de potencial hídrico. Por último, el potencial mátrico (ψ_m) se da por la interacción de las superficies con el agua, sin embargo como ésta última es pequeña y muy difícil de medir, el impacto del potencial mátrico en el potencial hídrico usualmente se ignora. Para las circunstancias en las cuales el potencial gravitatorio y el mátrico son insignificantes, la ecuación de potencial hídrico se simplifica frecuentemente a:

$$\psi_H = \psi_s + \psi_p$$

(Buchanan *et al.*, 2000)

En el suelo el potencial hídrico está afectado principalmente por el potencial de soluto (ψ_s) y el potencial mátrico (ψ_m) (Kramer, 1974). En un medio hidropónico el potencial mátrico (ψ_m) se vuelve despreciable y así el potencial hídrico solo está afectado por el potencial de soluto (ψ_s). El potencial de soluto se cuantifica en valores positivos, pero como ejerce una tensión de afinidad al agua, se convierte en un vector negativo. Por lo tanto el potencial hídrico de los medios de cultivo se expresan como el valor negativo del potencial osmótico.

$$\psi_H = - (\psi_s)$$

El manitol ($C_6H_{14}O_6$) es un carbohidrato inerte en un medio líquido, es decir, no tiene función como nutriente ni efecto hormonal; pero es osmóticamente activo, y su adición a una solución afecta al potencial de soluto.

Las estrategias de germinación y establecimiento de las cactáceas

Al parecer las semillas de las cactáceas que habitan en el Valle de Tehuacan-Cuicatlán están obligadas a germinar una vez que son liberadas del fruto, puesto que están expuestas a una gran depredación, lo cual les impide incorporarse al banco de semillas (Rojas-Aréchiga y Batis, 2001). Para cactáceas se ha observado latencia innata o verdadera (que evita que la semilla germine en la planta madre por un tiempo después de la dispersión) y la forzada o impuesta (dada por factores ambientales como temperatura, luz y agua) (Vleeshouwers, *et al*; Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000). Esta última es la que juega el papel más importante en la germinación de las cactáceas, ya que para las plantas del desierto, las condiciones de crecimiento son desfavorables y la germinación sólo se realiza cuando hay una gran cantidad de agua disponible, como sucede durante una temporada de lluvias prolongada.

En los casos documentados con respecto a cactáceas, se ha visto que las semillas son fotoblásticas positivas o indiferentes en relación a la germinación (Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000), y que dicho comportamiento puede estar asociado con la forma de vida de las plantas adultas (así por ejemplo, en general, las cactáceas columnares tienen semillas indiferentes y las de forma globosa y barriliforme semillas fotoblásticas positivas), lo cual se interpreta como estrategias para la sobrevivencia y el establecimiento de las plántulas (Rojas-Aréchiga *et al*, 1997).

Ahora bien, se ha visto que las plántulas de cactus con forma de barril, como *Ferocactus acanthodes*, podrían soportar temperaturas tisulares extremas de hasta 60°C y -8°C , modificando la temperatura de la superficie de la planta. Esto se debe

a la forma barril-esférica que tienen estos cactus que le confiere una mayor capacidad para almacenar agua, y a la convección interna que disminuye la temperatura tisular. Se observa que es crucial el establecimiento rápido de las plántulas y su desarrollo, ya que a mayor talla hay más posibilidades de amortiguar las temperaturas extremas (Nobel, 1984).

En cactáceas los factores ambientales que afectan la germinación parecen repercutir en el establecimiento de las plántulas (Rojas-Aréchiga *et al*, 1998), por lo que el éxito o fracaso de una población podría ser reflejo de las estrategias de establecimiento de las plántulas y sus respuestas ante condiciones adversas del ambiente; lo anterior puede estar ligado a los hábitos de vida de las plantas adultas.

Como sucede en la mayoría de las plantas, la etapa de plántula es muy sensible, situación que se acentúa en las cactáceas debido a las presiones ambientales. Este hecho se ha documentado ampliamente para varias especies de la familia (Turner *et al*, 1966, 1969; Steenbergh y Lowe, 1969; Jordan y Nobel, 1979, 1981, 1982; Nobel, 1984, 1989; Franco y Nobel, 1989; Nolasco *et al*, 1996; Valiente-Banuet y Ezcurra, 1991; Álvarez y Montaña, 1997; Mandujano *et al*, 1996; Arizaga y Ezcurra, 1999; de Viana *et al*, 1999; Esparza *et al*, 1999; Gibson *et al*, 1999; Jiménez *et al*, 1999; Leirana-Alcocer y Parra-Tabla, 1999; Méndez *et al*, 1999; Osorio *et al*, 1999; Quijas, 1999; Carrillo-García *et al*, 2000; Contreras, 2000; Martínez *et al*, 2001; Medina y Valiente-Banuet, 2001; Navarro y Flores, 2001; Olvera, 2001; Ruedas *et al*, 2001; Zúñiga, 2001).

Dada la alta mortalidad que presentan las plántulas en el medio natural, la mayoría de los estudios se han enfocado a analizar cómo afectan los distintos factores físicos a la sobrevivencia, así como las interacciones ecológicas que la influyen, por ejemplo, el nodricismo y la depredación; otros trabajos han hecho hincapié en la dinámica poblacional señalando los factores bióticos que la afectan, incluyendo los de índole antropogénica.

Ahora bien, en el caso particular del efecto del estrés hídrico, la sobrevivencia de las plántulas de suculentas puede estar determinada por la cantidad de agua almacenada en los tejidos desarrollados durante la primera temporada de crecimiento. Dicha sobrevivencia es favorecida por la forma esferoidal (como la que poseen las plántulas de cactáceas y que varía según la especie y edad de las plántulas), ya que reduce el área superficial por unidad de volumen y consecuentemente la pérdida de agua (Jordan y Nobel, 1981). En años de lluvias frecuentes y constantes, convenientes para el establecimiento, las plántulas crecen hasta una talla suficiente en la cual el agua almacenada no sea agotada por la transpiración cuticular durante la temporada de sequía (Jordan y Nobel, 1982).

La duración de la temporada de sequía, previa a la temporada de lluvias, aparentemente determina el establecimiento exitoso de las plántulas de cactáceas, y el patrón de años exitosos determina, en general, la distribución de talla de la población; sin embargo, la baja capacidad de almacenar agua por unidad de área superficial causa que las plántulas, durante el primer año de vida, sean más susceptibles que los adultos a una desecación letal durante sequías prolongadas (Jordan y Nobel, 1982); aunque se ha documentado que las plántulas pueden responder a los pulsos esporádicos de humedad rápidamente (Andrade y Nobel, 1996).

Es claro que la baja disponibilidad de agua en el suelo eventualmente afecta al contenido de agua de la planta, sin embargo, según Jordan y Nobel (1981), el consumo de las reservas de carbohidratos y la disminución de la masa fresca de las plántulas también puede jugar un papel importante en su establecimiento.

Otro fenómeno observado, relacionado con el régimen hídrico, es que las suculentas desérticas se vuelven más susceptibles a las altas temperaturas a la vez que la presión osmótica de sus células de clorénquima se incrementa en respuesta al estrés hídrico; en contraparte, el déficit hídrico puede incrementar la tolerancia a las bajas temperaturas (Nobel, 1984).

Nodricismo

A las asociaciones de las cactáceas con otras plantas que les proveen de un microhábitat que reduzca las condiciones desfavorables se le llama nodricismo. Se ha visto que en cactáceas este fenómeno reduce la mortalidad y favorece el establecimiento de las plántulas en varias de las especies: *Carnegiea gigantea* (Turner *et al*, 1966; Steenberg y Lowe, 1969), *Neobuxbaumia tetetzo* (Valiente-Banuet y Ezcurra, 1991), *Echinocactus platyacanthus* (Arizaga y Ezcurra, 1999), *Trichocereus pasacana* (de Viana *et al*, 1999), *Neobuxbaumia macrocephala* (Esparza, *et al*, 1999), *Ferocactus lüstrix* (Escobar y Huerta, 1999), *Mammillaria gaumeri* (Leirana-Alcocer y Parra-Tabla, 1999), *Pachycereus hollianus* (Zavala *et al*, 1999), *Pachycereus pringlei* (Carrillo-García *et al*, 2000), *Mammillaria crucigera* (Contreras, 2000), *Opuntia tomentosa* (Olvera, 2001), *Lophophora diffusa* (Zúñiga *et al*, 2001).

Numerosos estudios analizan las condiciones microambientales que pueden ofrecer las plantas nodriza para el establecimiento fácil de las plántulas (Álvarez y Montaña, 1997) y observan los gradientes ambientales que provocan para relacionarlos con los porcentajes de germinación, tasas de crecimiento de las plántulas, etc. (Franco y Nobel, 1989; Valiente-Banuet y Ezcurra, 1991). Inclusive en otros casos se ha visto que con la formación de conglomerados de plantas se

crea un microambiente que puede ser favorable para el establecimiento de las plántulas (Reyes-Valdés *et al*, 1999).

Cabe señalar que no siempre el nodricismo está dado por plantas, sino que en algunos casos las rocas pueden funcionar como nodrizas (Peters y Ezcurra, 1998).

En general se acepta que las plantas nodrizas generan islas de recursos (Carrillo-García *et al*, 2000), amortiguan las temperaturas extremas en el interior del dosel, disminuyen la desecación del suelo y retienen humedad por más tiempo, proveen de altos niveles de nutrientes al suelo, y reducen el riesgo de depredación de plántulas y semillas

En contraparte, el nodricismo puede producir efectos negativos. Se ha visto que la germinación puede ser inhibida cuando se usa sustrato extraído de la base de plantas nodrizas (Franco y Nobel, 1989; Álvarez y Montaña 1997). En plántulas, se reduce la tasa de crecimiento (Álvarez y Montaña, 1997) y de captura de CO₂ (Franco y Nobel, 1989), y se ejerce una fuerte presión de competencia por agua en el suelo (Franco y Nobel, 1989).

El metabolismo de las plántulas de las cactáceas

En los ambientes áridos, uno de los problemas que deben sortear las cactáceas es la fuerte insolación que les provoca desecación y degradación de pigmentos fotosintéticos, entre otros. Una forma de solventar la situación es el metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM), la estructura suculenta, etc. Pero en el caso de las semillas y de las plántulas en que difícilmente habrá una buena cantidad de agua disponible, la situación se torna más difícil, y por eso éstas son las etapas de desarrollo en que las poblaciones son más susceptibles.

Al momento de la germinación, las plántulas de la subfamilia Cactoideae presentan un metabolismo C₃, el cual cambia a CAM conforme aumenta la edad. Este comportamiento se asocia con el decremento en la relación superficie-volumen de las plántulas durante su crecimiento (Altesor *et al*, 1992).

El cultivo *in vitro* de las especies en estudio

La preocupación actual por la declinación de las poblaciones de cactáceas ha incentivado la necesidad de desarrollar estrategias para su conservación y restauración de poblaciones dañadas. Una opción que se ha explorado es la regeneración de poblaciones mediante propagación sexual y vegetativa (por ejemplo la regeneración de plantas mediante cultivo de tejidos). Esta última ha

resultado de gran interés por las posibilidades que ofrece para obtener muchos individuos nuevos en un lapso de tiempo corto.

En el género *Echinocactus* se han desarrollado metodologías para la obtención de plántulas mediante cultivo de tejidos (Frías, 1989; Martínez *et al.*, 1999), mientras que para el género *Polaskia* no hay trabajos al respecto.

Sin embargo, en estudios ecofisiológicos lo que se busca es tratar de entender la respuesta de una población de individuos ante un factor ambiental. La utilización de plántulas obtenidas *in vitro* restringiría las conclusiones al genotipo que se trabajó. Es por eso que se elige trabajar con plántulas obtenidas desde semilla.

En función de lo expuesto, en este trabajo se plantean los siguientes objetivos:

OBJETIVOS

Objetivo general

- Evaluar el comportamiento anatómico y fisiológico de plántulas de *Polaskia chihuipé* (Goss.) Backeberg y *Echinocactus platyacanthus* Link y Otto-fa. *grandis* (Rose) Bravo de distintas edades, bajo condiciones de estrés hídrico.

Objetivos particulares

- Establecer una metodología para la germinación y crecimiento temprano (100 días de edad) de las plántulas de *Polaskia chihuipé* y *Echinocactus platyacanthus*, y de las condiciones experimentales para su exposición al estrés hídrico.
- Evaluar la tasa de intercambio de CO₂ y de vapor de agua en plántulas de ambas especies de distintas edades en estrés hídrico.
- Observar y evaluar las modificaciones anatómicas como respuesta al estrés hídrico en brote y raíz de plántulas de distintas edades en ambas especies.
- Comparar los patrones de comportamiento fisiológico y anatómico de las plántulas de ambas especies.

METODOLOGÍA GENERAL (Figura I-2)

1. Se colectaron frutos de *Polaskia chichipe* (Goss.) Backeberg y *Echinocactus platyacanthus* Link y Otto fa. *grandis* (Rose) Bravo en localidades del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Se midieron y pesaron los frutos (Apéndice II). Se separaron las semillas.
2. Se realizaron pruebas de germinación, crecimiento de las plántulas y condiciones experimentales de estrés hídrico para el proyecto general (Capítulo II, Condiciones de germinación y crecimiento en *Polaskia chichipe* y *Echinocactus platyacanthus*).
3. Se montó el experimento de acuerdo a los resultados de los ensayos previos.
4. Se realizó la evaluación de las tasas de intercambio de CO₂ y transpiratorias en tres edades de las plántulas (Capítulo III, Evaluación de las tasas fotosintética y transpiratoria en *Polaskia chichipe* y *Echinocactus platyacanthus*).
5. Se realizó la evaluación de las variables anatómicas en tres edades de las plántulas (Capítulo IV, Evaluación de variables histológicas en *Polaskia chichipe* y *Echinocactus platyacanthus*).

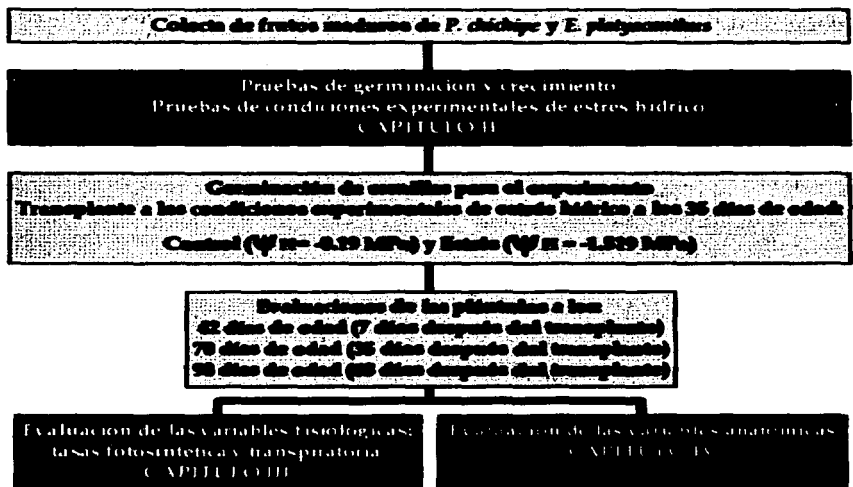


Figura I-2. Diagrama de flujo de la metodología general del proyecto.

6. Se analizaron los datos para determinar si hay patrones de comportamiento metabólico y morfológico (Capítulo V, Discusión general).

Las especies estudiadas

Se estudiaron las plántulas de dos especies de cactáceas: *Polaskia chichiipe* (Goss.) Backeberg (Tribu Pachycereeae) y *Echinocactus platyachantus* Link y Otto fa. *grandis* (Rose) Bravo (Tribu Cacteeae), con hábito de vida columnar-arborescente y globoso, respectivamente.

Polaskia chichiipe (Goss.) Backeberg es una planta columnar-arborescente de 3 a 5 m de alto, profusamente ramificada. El tallo principal es corto, las ramas terminales van de 7 a 9 cm de ancho, ligeramente arqueadas, verde claras y formando una copa compacta (Figura I-3a); presenta de 9 a 12 costillas (Arias *et al*, 1997); los frutos tienen alrededor de 20 mm de longitud, 19.9 mm de diámetro y pesan 6.8 g (ver Apéndice II), son globosos, rojos, con areolas deciduas en la madurez (Arias *et al*, 1997); las semillas (Figura I-3b) miden 1.3 mm de largo, son negras con puntuaciones hundidas que se hacen más pequeñas hacia el hilo (Cruz-González, 2002). Se distribuye en los Estados de Puebla y Oaxaca, en los alrededores de Tehuacán, Puebla, y en la Mixteca alta (Bravo-Hollis, 1978); se encuentran poblaciones abundantes en las cercanías de Huajuapán de León sobre la carretera Huajuapán-Tamazulapán-Oaxaca. Florece entre febrero y julio.



Figura I-3. a: Planta adulta de *P. chichiipe* (Goss.) Backeberg en el Valle de Huajuapán, Oaxaca. b: Vista lateral de la semilla madura en el microscopio electrónico de barrido, mostrando la región hilo-micropilar (RHM) y la región dorsal (RD).

Echinocactus platyachantus Link y Otto fa. *grandis* (Rose) Bravo, es una planta simple cespitosa con tallos de 0.5 a 2.0 m de alto y 0.4 a 0.8 m de ancho, verde oscuro, el ápice hundido tiene abundante lana amarilla (Figura I-4a) (Arias *et al*, 1997); los frutos tienen alrededor de 35.7 mm de longitud, 14 mm de diámetro y pesan 3.6 g (ver Apéndice II), largamente oblongos, reniformes, pardo oscuros (Arias *et al*, 1997); las semillas son negras (a veces café rojizo) con testa lisa (Figura I-4b). Es una especie endémica de México y se encuentra en los estados de Coahuila, Guanajuato, Hidalgo, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas y Zacatecas. Esta especie tiene tres formas, de las cuales la forma *grandis* (Rose) Bravo es la que crece en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Su hábitat es el matorral xerófito. Florece entre junio y septiembre (Arias *et al*, 1997). El fruto queda atrapado por un tiempo en la lana del ápice, por lo que es posible coleccionar semillas casi todo el año.

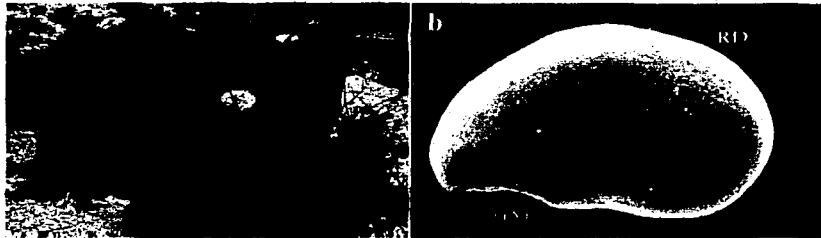


Figura I-4. a: Plantas adultas de *E. platyachantus* Link y Otto fa. *grandis* (Rose) Bravo en el Valle de Zapotitlán, Puebla. b: Vista lateral de la semilla madura en el microscopio electrónico de barrido, mostrando la región hilo-micropilar (RHM) y la región dorsal (RD).

Las zonas de colecta

El Valle de Tehuacán-Cuicatlán es una región xerófitica, localizada en la parte sur del estado de Puebla y noroeste del estado de Oaxaca entre los 17°39' y 18°53' de latitud norte y los 96°55' y 97°44' de longitud oeste. Forma parte de la región denominada Mixteca Oaxaqueña, y abarca varios valles entre los que destacan los de Cuicatlán, Huajuapán, Tehuacán, Tepelmeme y Zapotitlán. Su clima es de tipo semiárido con temperatura alta, régimen de lluvias de verano con canícula y con poca a extremosa oscilación de temperatura (Villaseñor *et al*, 1990).

Dentro de esas demarcaciones se eligieron zonas de colecta donde estuvieran presentes las especies de interés. Los frutos de *Polaskia chichiye* se coleccionaron en mayo del 2001 en una población cercana a la carretera Huajuapán-Tamazulapán-

Oaxaca Km 7 (17°45.155' latitud norte y 97°44.739' longitud oeste) perteneciente al Valle de Huajuapán; los frutos de *Echinocactus platyacanthus* se colectaron en marzo del 2001 en una población aledaña a la carretera México-Huajuapán en el Km 13 (18°24.483' latitud norte y 97°26.207' longitud oeste) y que forma parte del Valle de Zapotitlán.

REFERENCIAS

- Altesor, A., E. Ezcurra y C. Silva. 1992. Changes in the photosynthetic metabolism during the early ontogeny of four cactus species. *Acta Oecologica*, 13(6):777-785
- Álvarez, M. y C. Montaña. 1997. Germinación y sobrevivencia de cinco especies de cactáceas del Valle de Tehuacán: implicaciones para su conservación. *Acta Botánica Mexicana*, 40:43-58
- Andrade, J. y P. Nobel. 1996. Habitat, CO₂ uptake and growth for the CAM epiphytic cactus *Epiphyllum phyllanthus* in a Panamanian tropical forest. *Journal of Tropical Ecology*, 12(2):291-306
- Arias, M. S. 1993. Cactáceas: conservación y diversidad en México. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.*, XLIV:109-115
- Arias, M. S., S. Gama y U. Guzmán. 1997. *Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Fascículo 14. Cactaceae A. L. Juss.* Instituto de Biología, UNAM, México.
- Arias, T. A. 2000. *Las plantas de Zapotitlán de las Salinas, Puebla: Un folleto de divulgación sobre botánica y conservación.* Tesis Licenciatura: Biólogo. Facultad de Ciencias, UNAM, México. p11
- Arizaga, S. y E. Ezcurra. 1999. Resultados preliminares de seis cactus reintroducidos a su hábitat en Zapotitlán de las Salinas, Puebla. En: *Libro de Resúmenes del 2° Congreso Mexicano y 1° Congreso Latinoamericano y del Caribe de Cactáceas y Otras Suculentas*, del 26 al 30 de octubre de 1999 en Oaxaca, México.
- Bravo-Hollis, H. 1978. *Las Cactáceas de México. Vol. I.* UNAM, México.
- Buchanan, B., W. Gruissem y R. Jones. 2000. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants.* American Society of Plant Physiology, Maryland.
- Carrillo-García, A., Y. Bashan y G. Bethlenfalvay. 2000. Resource-island soils and the survival of the giant cactus, cardon, of Baja California Sur. *Plant and Soil*, 218:207-214
- Contreras, C. 2000. *Dinámica poblacional de Mammillaria crucigera (Cactaceae), una especie rara de la región de Tehuacán-Cuicatlán.* Tesis Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM, México. 95 pp
- Cruz-González, Y. 2002. Caracterización morfológica y molecular de un posible híbrido entre *Escontria chiotilla* y *Polaskia chichi*pe (Cactaceae). Tesis Licenciatura, Biólogo. Facultad de Ciencias, UNAM, México. 68 pp

- de Viana, L., P. Ortega., R. Acosta y M. Saravia. 1999. El efecto nurse y la distribución espacial de *Trichocereus pasacana* en el noroeste de Argentina. En: *Libro de Resúmenes del 2° Congreso Mexicano y 1° Congreso Latinoamericano y del Caribe de Cactáceas y Otras Suculentas*, del 26 al 30 de octubre de 1999 en Oaxaca, México.
- Escobar, S. V. y F. Huerta. 1999. Relaciones ecológicas de *Ferocactus lustrix* (DC.) Lindsay en los llanos de Ojuelos, Jalisco-Zacatecas. *Cactaceas y Suculentas Mexicanas*, 44:40-48
- Esparza, L., T. Valverde y E. Vilchis. 1999. Dinámica poblacional de *Neobuxbaumia macrocephala* en Zapotitlán de las Salinas, Pue. En: *Libro de Resúmenes del 2° Congreso Mexicano y 1° Congreso Latinoamericano y del Caribe de Cactáceas y Otras Suculentas*, del 26 al 30 de octubre de 1999 en Oaxaca, México.
- Franco, A. y P. Nobel. 1989. Effect of nurse plants on the microhabitat and growth of cacti. *Journal of Ecology*, 77:870-886
- Frías, D. M. 1989. *Desarrollo metodológico para la propagación vegetativa de Echinocactus grusonii Hildman (Cactaceae) mediante cultivo de tejidos*. Tesis: Licenciatura, ENEP Iztacala, UNAM. 87 pp
- Gibson, A., M. Armella, W. Etges, C. Ramos y E. Sandoval. 1999. La depredación de semillas de *Backebergia millitaris* y las implicaciones en su conservación. En: *Libro de Resúmenes del 2° Congreso Mexicano y 1° Congreso Latinoamericano y del Caribe de Cactáceas y Otras Suculentas*, del 26 al 30 de octubre de 1999 en Oaxaca, México.
- Jiménez, C., M. Sotero y L. Eguiarte. 1999. Demografía, morfometría y distribución de *Echinocactus platyacanthus* forma *platyacanthus*, en la Barranca de Meztlán, Hidalgo. En: *Libro de Resúmenes del 2° Congreso Mexicano y 1° Congreso Latinoamericano y del Caribe de Cactáceas y Otras Suculentas*, del 26 al 30 de octubre de 1999 en Oaxaca, México.
- Jordan, P. y P. Nobel. 1979. Infrequent establishment of seedlings of *Agave deserti* (Agavaceae) in the Northwestern Sonoran Desert. *American Journal of Botany*, 66(9):1079-1084
- Jordan, P. y P. Nobel. 1981. Seedling establishment of *Ferocactus acanthodes* in relation to drought. *Ecology*, 62(4):901-906
- Jordan P. y P. Nobel. 1982. Height distribution of two species of cacti in relation to rainfall, seedling establishment, and growth. *Botanical Gazette* 143(4):511-517
- Kramer, P. 1974. *Relaciones hídricas de suelos y plantas, una síntesis moderna*. EDUTEX, México.
- Lambers, H., S. Chapin y T. Pons. 1998. *Plant physiological ecology*. Springer, Nueva York.
- Larcher, W. 1991. *Physiological plant ecology*. Springer-Verlag, Berlín.

- Leirana-Alcocer, J. y V. Parra-Tabla. 1999. Factors affecting the distribution, abundance and seedling survival of *Mammillaria gaumeri*, an endemic cactus of coastal Yucatán, México. *Journal of Arid Environments*, 41:421-428
- Mandujano, M., C. Montaña y L. Eguiarte. 1996. Reproductive ecology and inbreeding depression in *Opuntia rastrera* (Cactaceae) in the Chihuahuan desert: why are sexually derived recruitments so rare? *American Journal of Botany*, 83(1):63-70
- Martínez, L., G. León, J. Prado, J. Lechuga, F. Cruz, H. Serrano y M. García. 1999. El cultivo de tejidos de *Echinocactus platyacanthus* Link et Otto. *Libro de Resúmenes del 2° Congreso Mexicano y 1° Congreso Latinoamericano y del Caribe de Cactáceas y Otras Suculentas*, del 26 al 30 de octubre de 1999 en Oaxaca, México.
- Martínez, R., G. Manzanero y A. Flores. 2001. Propagación sexual y crecimiento de plántulas de *Stenocereus treleasei* (Britton & Rose) Backeb. En: *Resúmenes del XV Congreso Mexicano de Botánica*, del 14 al 19 de octubre, Jurica, Querétaro.
- Medina, J. y A. Valiente. 2001. Cambios demográficos de *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) a lo largo de una cronosecuencia de suelos en el Valle de Tehuacán. En: *Resúmenes del XV Congreso Mexicano de Botánica*, del 14 al 19 de octubre, Jurica, Querétaro.
- Méndez, M., R. Durán, A. Dorantes y P. Sima. 1999. Germinación y sobrevivencia de plántulas de *Pterocereus gaumeri* (Briton y Rose) MacDougall y Miranda, Especie Endémica de la península de Yucatán. En: *Libro de Resúmenes del 2° Congreso Mexicano y 1° Congreso Latinoamericano y del Caribe de Cactáceas y Otras Suculentas*, del 26 al 30 de octubre de 1999 en Oaxaca, México.
- Navarro, M. y A. Flores. 2001. Aspectos demográficos de *Echinocereus pulchellus* (Mart.) K. Schum. var. *pulchellus* (Cactaceae) en el municipio de Chignahuapan, Puebla. En: *Resúmenes del XV Congreso Mexicano de Botánica*, del 14 al 19 de octubre, Jurica, Querétaro.
- Nilsen, E. y D. Orcutt. 1996. *The plant physiology of plants under stress*. John Wiley & Sons, Nueva York.
- Nobel, P. 1984. Extreme temperatures and thermal tolerances for seedlings of desert succulents. *Oecologia*, 62:310-317
- Nobel, P. 1989. Temperature, water availability, and nutrient levels at various soil depth-consequences for shallow-rooted desert succulents, including nurse plant effects. *American Journal of Botany*, 76(10):1486-1492
- Nolasco, H., F. Vega-Villasante, H. L. Romero-Schmidt y A. Diaz-Rondero. 1996. The effects of salinity, acidity, light and temperature on the germination of seeds of cardón (*Pachycereus pringlei* (S.Wats.) Britton & Rose, Cactaceae). *Journal of Arid Environments*, 33:87-94

- Olvera, Y. 2001. *Estudio ecofisiológico de la germinación, sobrevivencia y crecimiento de Opuntia tomentosa S.D. en la Reserva del Pedregal de San Ángel*. Tesis Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM, México, 98pp
- Osorio, R., G. Varela., L. Martínez y J. Morales. 1999. Análisis del establecimiento de *Hylocereus undatus* Haworth en suelo. En: *Libro de Resúmenes del 2° Congreso Mexicano y 1° Congreso Latinoamericano y del Caribe de Cactáceas y Otras Suculentas*, del 26 al 30 de octubre de 1999 en Oaxaca, México.
- Peters E. y E. Ezcurra. 1998. Factores que facilitan el establecimiento de *Mammillaria pectinifera* (Cactaceae). En: *Libro de resúmenes, VII Congreso Latinoamericano de Botánica, XIV Congreso Mexicano de Botánica*, del 14 al 18 de octubre, Ciudad de México.
- Quijas, S. 1999. *Análisis demográfico por edades de Mammillaria magnimamma (Cactaceae) en el Pedregal de San Angel, México, D.F.* Tesis: Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM, México. 90 pp
- Reyes-Valdés, H., H. García-Osuna, R. Rojas y J. Martínez-Ávalos. 1999. Distribución espacial dentro de las colonias de *Turbinicarpus valdenzianus* (Moler) Gl. & F. En: *Libro de Resúmenes del 2° Congreso Mexicano y 1° Congreso Latinoamericano y del Caribe de Cactáceas y Otras Suculentas*, del 26 al 30 de octubre de 1999 en Oaxaca, México.
- Rojas-Aréchiga, M.; A. Orozco-Segovia y C. Vázquez-Yanes. 1997. Effect of light on germination of seven species of cacti from the Zapotitlán Valley in Puebla, México. *Journal of Arid Environments*, 36:571-578
- Rojas-Aréchiga, M., C. Vázquez-Yanes y A. Orozco-Segovia. 1998. Seed response to temperature of Mexican cacti species from two life forms: an ecophysiological interpretation. *Plant Ecology*, 135:207-214
- Rojas-Aréchiga, M. y C. Vázquez-Yanes. 2000. Cactus seed germination: a review. *Journal of Arid Environments*, 44:85-104
- Rojas-Aréchiga, M. y A. Batis. 2001. Las semillas de cactáceas ... ¿forman bancos en el suelo? *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*, 46(4):76-82
- Ruedas, M., T. Valverde y S. Castillo. 2001. Respuesta germinativa y crecimiento de plántulas de *Mammillaria magnimamma* (Cactaceae) bajo diferentes condiciones ambientales. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 66:25-35
- Steenbergh, W. y C. Lowe. 1969. Critical factors during the first years of life of the sahuaro (*Cereus giganteus*) at Sahuaro National Monument, Arizona. *Ecology*, 50(5):825-834
- Smith, S., R. K. Monson y J. E. Anderson. 1997. *Physiological ecology of North American Desert Plants*. Springer, Berlín.
- Taiz, L. y E. Zeiger. 1991. *Plant Physiology*. Benjamin-Cummings, California.
- Turner, R., S. Alcorn., G. Olin y J. Booth. 1966. The influence of shade, soil, and water on sahuaro seedling establishment. *Botanical Gazette*, 127(2-3):95-102
- Turner, R., S. Alcorn y G. Olin. 1969. Mortality of transplanted sahuaro seedlings. *Ecology*, 50(5):835-844

- Valiente-Banuet, A. y E. Ezcurra. 1991. Shade as a cause of association between the cactus *Neobuxbaumia tetetzo* and the nurse plant *Mimosa luisana* in the Tehuacán Valley, México. *Journal of Ecology*, 79:961-971
- Villaseñor, J. L.; P. Dávila y F. Chiang. 1990. Fitogeografía del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. *Bol. Soc. Bot. México*, 50:135-149
- Vleeshouwers, L., H. Bouwrneester y C. Karsen. 1995. Redefining seed dormancy: an attempt to integrate physiology and ecology. *Journal of Ecology*, 83:1031-1037
- Zavala, J. M. Rojas-Aréchiga y A. Díaz. 1999. Implicaciones ecológicas de la reparación somática en la cactácea columnar *Pachycereus hollianus*. Reproducción y establecimiento. En: *Libro de Resúmenes del 2° Congreso Mexicano y 1° Congreso Latinoamericano y del Caribe de Cactáceas y Otras Suculentas*, del 26 al 30 de octubre de 1999 en Oaxaca, México.
- Zúñiga, B., G. Malda y H. Suzán. 2001. Condiciones microclimáticas que favorecen el establecimiento de *Lophophora difusa* (Croizat) Bravo. En: *Resúmenes del XV Congreso Mexicano de Botánica*, del 14 al 19 de octubre, Jurica, Querétaro.

CAPÍTULO II

Condiciones de germinación de las semillas y crecimiento temprano de las plántulas de *Polaskia chichipe* y *Echinocactus platyacanthus*

“En tierra seca duermen
la lluvia llegó,
calor y brota el germen.”

INTRODUCCIÓN

El estudio de la germinación y crecimiento inicial de las cactáceas ha cobrado importancia debido a que en la actualidad su propagación es prioritaria para su conservación. A su vez, estos estudios han servido para contribuir al conocimiento que se tiene de la fisiología de las cactáceas al aportar herramientas que ayudan a esclarecer preguntas sobre los factores que influyen en la germinación, como son la latencia y el aprovechamiento del agua por las semillas.

Latencia

Se conocen en general tres tipos de latencia: innata, forzada e inducida (Camacho, 1994; Vleeshouwers *et al*, 1995). En cactáceas únicamente se han observado dos de ellos: la innata o verdadera que evita que la semilla germine en la planta madre o un tiempo después de la dispersión y la forzada o impuesta que está dada por factores ambientales como temperatura, luz y agua (Fearn, 1981; Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000). Esta última es la que juega el papel más importante en la germinación de las cactáceas ya que para las plantas de zonas áridas las condiciones para el crecimiento son desfavorables y la germinación sólo se realiza cuando hay una alta probabilidad de que las plantas producidas lleguen a la madurez (Camacho, 1994).

Se ha visto que las semillas de cactáceas recién colectadas y puestas a germinar en condiciones óptimas (temperaturas entre 17 y 34°C, buena humedad y luz), registran porcentajes de germinación de regulares a altos sin haber tenido pretratamiento alguno, como es el caso de *Astrophytum myriostigma* (Arredondo y Camacho, 1995), *Pachycereus pecten-aborigenum* (Dubrovski, 1996), *Pachycereus pringlei* (Nolasco *et al*, 1996), *Pilosocereus chrysacanthus*, *Cephalocereus columna-trajanii*, *Ferocactus latispinus*, *Stenocereus stellatus*, *Wilcoxia viperina* (Álvarez y Montaña, 1997), *Stenocereus thurberi* (Nolasco *et al*, 1997), *Ferocactus recurvus*, *Ferocactus robustus* (Rojas-Aréchiga *et al*, 1997), *Coryphantha pallida*, *Echinocactus platyacanthus*, *Ferocactus flavovirens*, *Neobuxbaumia tetetzo*, *Opuntia puberula*, *Pachycereus hollianus* (Godínez-Álvarez y Valiente-Banuet, 1998), *Ferocactus*

peninsulae, *Ferocactus histrix* (Escobar y Huerta, 1999). Esto confirma que la latencia impuesta o forzada es más importante que la latencia innata o verdadera en las cactáceas ya que ésta se pierde solamente después de la liberación de la semilla, mientras que la forzada o impuesta está más relacionada con las limitantes ambientales propias de las zonas áridas; es por ello que Fearn (1981) la llama latencia falsa ya que no es un mecanismo completamente interno el que la determina.

Para otros casos como en algunas especies del género *Opuntia*, la germinación de semillas es un fenómeno que se da pero no en alta proporción porque las semillas necesitan cierta madurez fisiológica o la intervención de microorganismos que ayuden a la germinación, permitiendo el desgaste de la cubierta funicular que está altamente esclerosada (Olvera, 2001; Flores, 2002).

Tratamientos de escarificación

Los tratamientos de escarificación que usualmente se utilizan en los experimentos de germinación simulan las condiciones naturales a las que las semillas están expuestas, como son:

- Escarificación química con soluciones ácidas para imitar las condiciones del aparato digestivo de un herbívoro que haya ingerido el fruto.
- Escarificación mecánica para simular arrastre por agua o viento.
- Temperaturas fluctuantes para simular los cambios de temperatura durante el día.
- Ciclos de hidratación-deshidratación para simular las lluvias esporádicas y discontinuas en zonas áridas.

Escarificación química y mecánica

Muchos trabajos han demostrado el efecto que tiene sobre la testa la ingestión de frutos por animales, permitiendo a las semillas germinar si las condiciones son adecuadas (Escobar y Huerta, 1999; Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000); cuando los frutos son tragados totalmente, las semillas pasan por el tracto digestivo del animal, donde reciben un tratamiento ácido que las prepara para germinar y así son depositadas en las heces fecales. Una ligera inmersión de las semillas en soluciones ácidas de baja concentración, aumenta la germinación en algunas especies como *Pachycereus pringlei* (Nolasco et al, 1996), *Pachycereus hollianus* (Godínez-Álvarez y Valiente-Banuet, 1998), *Ferocactus histrix* (Escobar y Huerta, 1999) entre otras. Sin embargo, Álvarez y Montaña (1997) reportan para *Pilosocereus chrysacanthus*, *Cephalocereus columna-trajanii*, *Ferocactus latispinus*,

Stenocereus stellatus, *Wilcoxia viperina*, que los tratamientos de escarificación química no incrementaron la germinación. Resultados similares obtuvieron Godínez-Álvarez y Valiente Banuet (1998) para *Neobuxbaumia tetetzo*, *Coryphantha pallida*, *Echinocactus platyacanthus*, *Ferocactus flavovirens* y *Opuntia puberula*.

Kemp (1989, citado en Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000) reporta que las semillas dispersadas por el agua necesitan de una escarificación mecánica que simule la abrasión natural del suelo. No obstante, se ha observado que en algunos casos la escarificación mecánica disminuye drásticamente el porcentaje de semillas viables ya que el embrión puede ser dañado seriamente, y en otros casos el porcentaje de germinación total mejoró pero no de manera significativa (Álvarez y Montaña, 1997; Godínez-Álvarez y Valiente-Banuet, 1998).

En resumen, la escarificación mecánica está muy ligada a la forma de dispersión de la semilla, siendo letal para aquellas que no son aptas para usar el agua o viento como vector de dispersión (Bregman, 1988). Pero además parece existir una relación entre la sensibilidad a la escarificación química y el tipo de fruto (Rojas-Aréchiga com pers, 2002), lo que puede ser importante para algunas semillas, mientras que otras semillas son indiferentes a los tratamientos con ácidos.

Memoria de hidratación de la semilla

En las zonas áridas la precipitación pluvial es menor de 350 mm al año con una distribución muy irregular durante la época de lluvias, la época de sequía no es menor a 7 meses y la cubierta vegetal no es mayor al 70%; mientras que en las zonas semiáridas la precipitación pluvial llega a variar entre los 350 y 600 mm con una cobertura vegetal de poco más del 70% del área (Arias, 2000). Esto es un gran problema para las plantas de zonas áridas porque no pueden disponer de agua por intervalos de tiempo largos y continuos. En condiciones naturales las semillas están expuestas a patrones de hidratación y deshidratación continuas, por lo que la sobrevivencia de semillas en ambientes desérticos debe estar adaptada a ciclos de hidratación-deshidratación-rehidratación (Dubrovski, 1996).

La memoria de hidratación de la semilla se refiere a la habilidad que tiene para retener durante, los periodos de deshidratación, aquellos cambios fisiológicos inducidos como resultado de su hidratación. En la familia Cactaceae el fenómeno ocurre, con las siguientes características:

- Después de los eventos de hidratación las semillas toleran largos periodos de deshidratación.
- Los niveles de hidratación de las semillas menores a los requeridos para desencadenar la germinación, pueden producir cambios en el embrión que

ayudan a la semilla a acelerar la germinación en condiciones favorables, lo cual aumentará las probabilidades de sobrevivencia en la etapa crítica de plántula.

- Los cambios que se dan en la semilla son progresivos y acumulativos y son dependientes del tiempo de hidratación; no obstante son indiferentes al tiempo de deshidratación.

Dado que no hay una metodología general para la germinación de las semillas de cactáceas, se planteó realizar dos ensayos de germinación para determinar, primero, el tratamiento de escarificación para cada especie con el objetivo de promover su rápida y sincrónica germinación; y segundo, definir si modificando las concentraciones de medio Murashige y Skoog (1962) (MS) se promovieran mejores porcentajes de germinación, así como el crecimiento de las plántulas. Para lograr el estrés hídrico se eligió una sustancia osmóticamente activa que fue el manitol ($C_6H_{14}O_6$). Según Dabekauseen *et al* (1991), el manitol adicionado a medios de cultivo disminuye el potencial osmótico del medio. Por ello se realizaron además pruebas de transferencia a medios líquidos a base de medio MS, adicionados con diferentes concentraciones de manitol, para obtener distintos potenciales osmóticos y determinar una concentración de manitol suficiente para provocar estrés hídrico sin que fuera letal para las plántulas.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Obtener una metodología para la germinación y crecimiento temprano (100 días de edad) de las plántulas de *Polaskia chichipe* y *Echinocactus platyacanthus*, y de las condiciones experimentales para su exposición al estrés hídrico.

Objetivos particulares

- Obtener una metodología para la germinación rápida y sincrónica de semillas de *Polaskia chichipe* y *Echinocactus platyacanthus*.
- Determinar la concentración de medio MS para la germinación que promueva el mejor desarrollo de las plántulas de estas especies.
- Probar medio MS líquido con puentes de papel filtro adicionado con diferentes concentraciones de manitol para provocar estrés hídrico no letal a las plántulas.

METODOLOGÍA

Ensayos de germinación con tratamientos de escarificación

A las semillas de *P. chichipe* y *E. platyacanthus* se les aplicaron 5 tratamientos de escarificación (30 semillas cada uno):

- I. Sin escarificación. (Control)
- II. Escarificación con ácidos fuertes (H_2SO_4 o HCl) pH 1 durante 1 hora. (H+)
- III. Las semillas fueron sumergidas en agua a $50^\circ C$ por 5 min y después en agua a $24^\circ C$ por 24 horas. (Remojo)
- IV. Escarificación con ácidos fuertes (H_2SO_4 o HCl) pH 1 durante 1 hora más remojo por 24 horas (tratamiento III mas II). (H+ y Remojo)
- V. Escarificación con H_2SO_4 concentrado por 15 segundos. (Ac. Sulfúrico)

Las semillas se sembraron en: tierra-tepojal 1:1 (*ex vitro*) y agua-agar bacteriológico 1% ($10g L^{-1}$) pH 5.7 (*in vitro*). En éste último las semillas fueron desinfectadas, después de su correspondiente tratamiento de escarificación, con Tween 80 3 gotas $50 ml^{-1}$ por 30 min, Microdyn 3 gotas $50 ml^{-1}$ por 15 min, etanol al 70% por 2 min, hipoclorito de sodio comercial al 20% por 15 min y tres enjuagues con agua destilada esterilizada. Este ensayo fue realizado aproximadamente a 4 meses de la colecta de los frutos.

Ensayos de germinación *in vitro*

De acuerdo con el mejor tratamiento de escarificación se sembraron semillas de *P. chichipe* y *E. platyacanthus* los siguientes medios (pH 5.7, 40 semillas cada uno):

- I. Control: Agua-agar bacteriológico 1% ($10g L^{-1}$)
- II. MS 50%: Medio MS al 50% de sus componentes mas agar bacteriológico 1% ($10g L^{-1}$)
- III. MSC: Medio MS al 100% de sus componentes mas agar bacteriológico 1% ($10g L^{-1}$)

Ensayo de transferencia a medios líquidos *in vitro*.

Se realizó una curva patrón de medio MS líquido 50% adicionado con diferentes concentraciones de manitol ($C_6H_{14}O_6$), desde 0 a $160 g L^{-1}$, y se determinaron los potenciales osmóticos con un Microsmómetro (Micro Osmometer 3300,

Advanced Instruments, Massachusetts). De esta curva se obtuvieron las concentraciones requeridas para obtener medios MS líquidos 50% con potenciales osmóticos de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.5 y 2.0 MPa. A cada uno de estos medios se transfirieron 4 plántulas de *P. chichipe* y *E. platyacanthus*, de 28 a 56 días de edad, obtenidas en la mejor condición de germinación. Se mantuvieron en esas condiciones durante un 30 días y se seleccionó visualmente el medio MS líquido al 50% con el potencial osmótico suficiente para producir estrés hídrico sin ser letal. Los soportes empleados para el cultivo fueron puentes de papel filtro, los cuales permitieron que el brote se mantuviera vertical y que sólo las raíces estuvieran expuestas al medio líquido.

Para los ensayos de germinación y transferencia, los cultivos se mantuvieron en una cámara de ambiente controlado a $25^{\circ}\text{C} \pm 1$, fotoperiodo 16h luz-8h oscuridad, intensidad luminosa de $11960\text{-}15640 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayos de germinación con tratamientos de escarificación

En *P. chichipe* se obtuvieron valores bajos de germinación, tanto en el sustrato de tierra-tepojal como en agua-agar, lo cual se debió probablemente a un efecto perjudicial de la escarificación (Figuras II-1 y II-2).

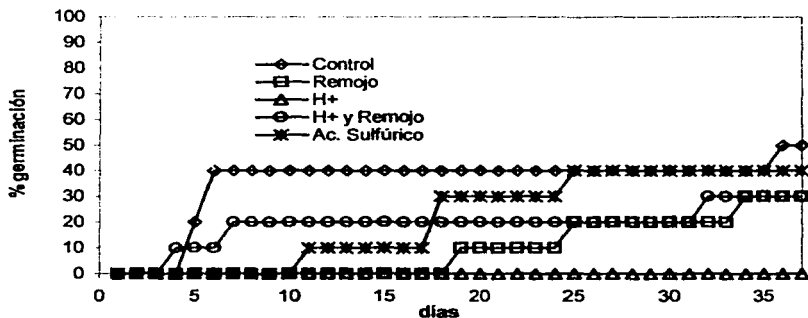


Figura II-1. Ensayo de germinación de *P. chichipe* en sustrato tierra-tepojal. Se obtuvieron en general bajos porcentajes de germinación. El mayor valor se obtuvo en el Control.

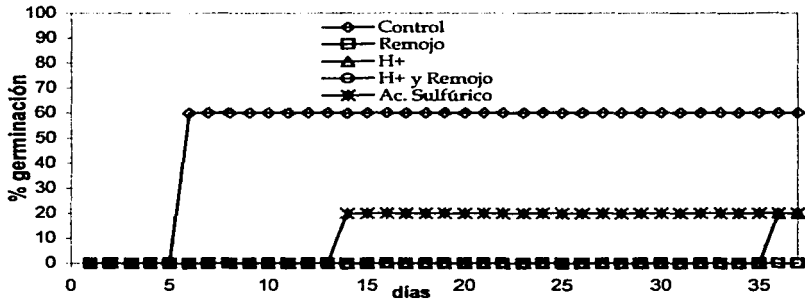


Figura II-2. Ensayo de germinación de *P. dichipe* en sustrato agua-agar 1%. El mejor porcentaje de germinación se obtuvo en el Control.

Los mejores resultados se obtuvieron en el Control con un 50% de germinación a los 36 días en tierra-tepojal 1:1 y 60% a los 6 días en Agua-Agar 1%. Esto podría indicar que no todas las semillas son viables o que el embrión aún no estaba lo suficientemente maduro para germinar, o que el agua no penetró las cubiertas en un 50% de las semillas.

Para *E. platyacanthus* el mejor tratamiento de escarificación en tierra-tepojal fue el de ácidos fuertes pH 1 durante 1 hora (H+) con un 90% de germinación a los 24 días (Figura II-3); en Agua-agar 1% los mejores tratamientos fueron los de ácido sulfúrico concentrado por 15 segundos (Ac. Sulfúrico) con un 100% a los 19 días y ácidos fuertes pH 1 por una hora (H+) con 100% a los 23 días (Figura II-4). La escarificación química intensificó la germinación; sin embargo los frutos de *E. platyacanthus* no son carnosos, lo cual reduce las posibilidades de que un animal pudiera ingerir las semillas y escarificarlas dentro de su tracto digestivo como lo reportan Escobar y Huerta (1999) para *Ferocactus latispinus*. Sería importante realizar más estudios sobre la dispersión de las semillas y relaciones ecológicas de *E. platyacanthus* para discutir más al respecto.

Los cultivos *in vitro* resultaron más adecuados para los fines que se persiguieron en el objetivo general (Capítulo I) porque están completamente asépticos, son un sistema cerrado que después de la siembra no tiene requerimientos de cuidados adicionales y se pueden obtener raíces lo suficientemente limpias (sin restos del sustrato) para iniciar el proceso microtécnico, por lo que se optó por realizar los siguientes ensayos en estas condiciones.

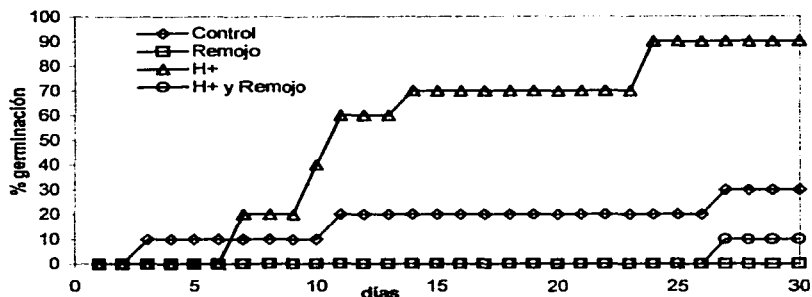


Figura II-3. Ensayo de germinación de *E. platyacanthus* en sustrato tierra-tepojal. El mayor porcentaje se obtuvo en el tratamiento de escarificación de ácidos fuertes pH 1 por 1h (H+)

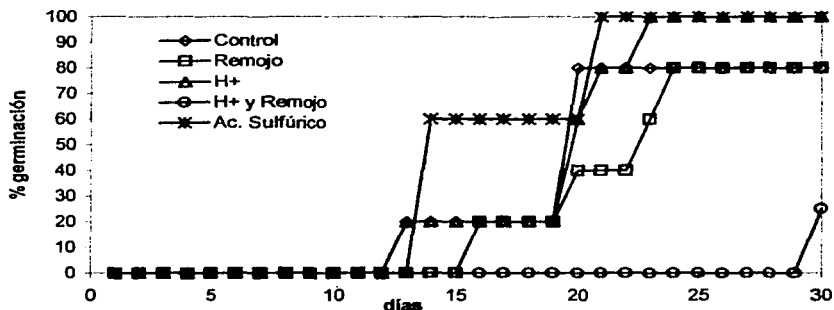


Figura II-4. Ensayo de germinación de *E. platyacanthus* en sustrato agua-agar 1%. Los mejores porcentajes de germinación se obtuvieron en los tratamientos de ácidos fuertes pH 1 por 1h (H+) y con H₂SO₄ concentrado por 15 s (Ac. Sulfúrico).

Ensayos de germinación *in vitro*

El mayor porcentaje de germinación y en menor lapso de tiempo se obtuvo en el medio de agua-agar 1% (90% a los 30 días en *P. chichiye* y 84% a los 18 días en *E. platyacanthus*) (Figuras II-5 y II-6), pero con la desventaja de que las plántulas prácticamente no crecieron. Lo anterior se puede atribuir a que el medio agua-agar

1% no tiene solutos disueltos, lo que hace que el potencial hídrico sea mayor y por tanto las semillas tengan mayor disponibilidad de agua, sin embargo esto solo acelera la germinación, no así el crecimiento de las plántulas debido al déficit de nutrientes. En el medio MS al 50% se obtuvieron porcentajes similares de germinación pero en mayor tiempo (80% a los 50 días en *P. chichiye* y 88% a los 34 días en *E. platyacanthus*), probablemente debido a que los solutos del medio MS al 50% disminuyen el potencial hídrico y restringen la disponibilidad de agua, no obstante favoreció el crecimiento de las plántulas por la presencia de nutrientes. Se ha reportado que en cultivos *ex vitro* el riego con medio MSC induce el crecimiento de plántulas de *Acanthocereus occidentalis* (Treviño *et al*, 2001), y que la adición de ácido giberélico desencadena un mayor crecimiento de plántulas de *Stenocereus treleasi* (Martínez *et al*, 2001), lo cual es congruente con los resultados obtenidos

En este trabajo se propone que para cultivos *in vitro* el medio MS al 50% es suficiente para promover el crecimiento de las plántulas de *P. chichiye* y *E. platyacanthus*, sin utilizar hormonas, y se descarta al medio MSC porque retarda el crecimiento de las plántulas probablemente debido a la alta concentración de sales, lo cual se ve reflejado en el amarillamiento y bajas tasas de crecimiento de las plántulas.

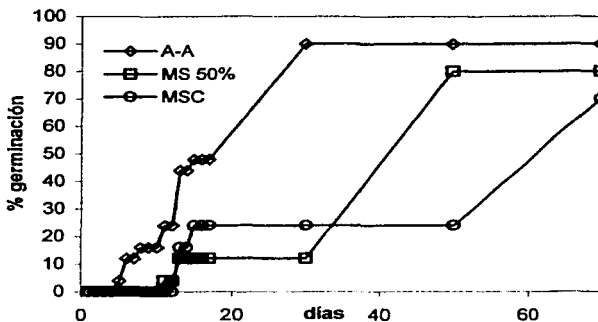


Figura II-5. Ensayo de germinación *in vitro* de *P. chichiye*. En Agua-Agar 1% (A-A) y en MS 50% se obtuvieron porcentajes similares de germinación, pero el último favoreció el crecimiento de las plántulas.

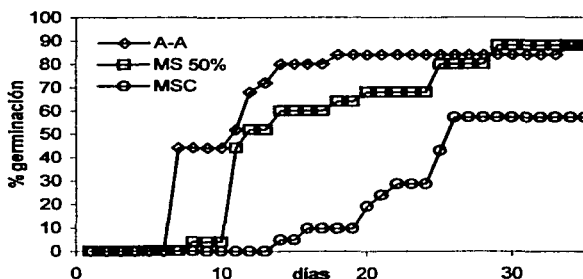


Figura II-6. Ensayo de germinación *in vitro* de *E. platyacanthus*. En los medios Agua-Agar 1% (A-A) y MS 50% se obtuvieron resultados similares, pero el último favoreció el crecimiento de las plántulas.

Ensayo de transferencia a medios líquidos *in vitro*.

De las mediciones en el Microsmómetro del medio MS al 50% adicionado con manitol se obtuvo la curva patrón que se muestra en la Figura II-7. Con ello se determinó la cantidad de manitol para provocar los potenciales osmóticos de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.5 y 2.0 MPa. Los primeros cuatro valores se emplearon basándose en Dabekauseen *et al* (1991) quienes los utilizaron en explantes (sin raíz), pero dado que las plántulas en el experimento tienen raíz se propuso adicionalmente los tres últimos. Las cantidades que se muestran en la Tabla II-1.

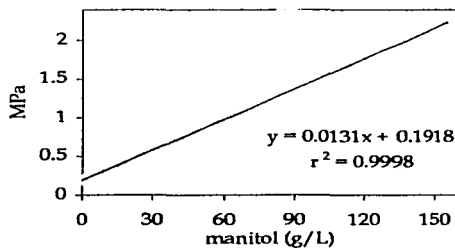


Figura II-7. Curva patrón de medio Murashige y Skoog adicionado con Manitol

Tabla II-1. MS al 50% adicionado con manitol y sus potenciales osmóticos correspondientes. Se marcan las concentraciones de manitol elegidas para el experimento.

Manitol g L ⁻¹	ψ osmótico MPa
0.0 *	0.197
0.6	0.202
16.16	0.405
31.72	0.607
47.29	0.810
62.85	1.013
101.76 *	1.519
140.67	2.026

Se transplantaron dos plántulas de cada especie a cada medio y se determinó que la concentración de manitol (101.76 g L^{-1}) que provoca un potencial osmótico de 1.5 MPa , fue suficiente para ocasionar estrés hídrico en las plántulas sin que éstas perecieran.

CONCLUSIONES

Los cultivos *in vitro* son más prácticos para los objetivos generales que se plantearon en este trabajo puesto que se pueden controlar y evitar así el efecto de variables externas.

Los tratamientos de escarificación disminuyeron el porcentaje de germinación en *P. chilchipe*, que en general fueron bajos. Por esta razón en los siguientes experimentos se sembraron las semillas de *P. chilchipe* sin escarificación alguna.

La escarificación química con ácidos fuertes favoreció la velocidad y sincronía de la germinación en *E. platyacanthus*, la cual en general presentó altos porcentajes. Por ello en los posteriores experimentos se sembraron las semillas de *E. platyacanthus* con escarificación química de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4 (conc)) durante 15 s.

El medio MS al 50% con Agar 1% fue el mejor para la germinación y desarrollo de las plántulas. El agua-agar 1% favoreció la germinación por tener mejor disponibilidad de agua pero impidió el crecimiento de las plántulas, probablemente debido a la deficiencia de nutrientes. El Medio MS al 100% con Agar al 1% retrasó y disminuyó la germinación quizás debido al exceso de solutos en el medio. Por lo tanto en los siguientes experimentos se usó Medio MS al 50% con Agar 1% para la germinación y crecimiento temprano de las plántulas.

El medio líquido MS 50% adicionado con 101.76 g L^{-1} de manitol ($\psi_H = -1.51 \text{ MPa}$) fue suficiente para ocasionar estrés hídrico en las plántulas de 1 a 2 meses de edad transplantadas desde MS 50% - Agar 1%, sin causarles daños letales. Es por eso que en los siguientes experimentos se utilizó esta concentración de manitol para provocar estrés hídrico.

REFERENCIAS

- Álvarez, A. M. y C. Montaña. 1997. Germinación y supervivencia de cinco especies de cactáceas del Valle de Tehuacán: implicaciones para su conservación. *Acta Botánica Mexicana*, 40:43-58
- Arias, T. A. 2000. *Las plantas de Zapotitlán de las Salinas, Puebla: Un folleto de divulgación sobre botánica y conservación*. Tesis Licenciatura: Biólogo. Facultad de Ciencias, UNAM, México. p11
- Arredondo, G. A. y F. Camacho. 1995. Germinación de *Astrophytum myriostigma* (Leimare) en relación con la procedencia de las semillas y la temperatura de incubación. *Cactáceas y suculentas mexicanas*, 40:34-38
- Bregman, R. 1988. Forms of seed dispersal in Cactaceae. *Acta Bot Neerl*, 37(3):395-402
- Camacho, M. F. 1994. *Dormición de semillas. Causas y tratamientos*. Trillas, México. pp 18-20
- Dabekausem, M. A. A., R. L. M. Pierik, J. D. van der Laken y J. Hoek Spaans. 1991. Factors affecting areole activation *in vitro* in the cactus *Sulcorebutia alba* Raush. *Scientia Horticulturae*, 46:283-294
- Dubrovsky, J. G. 1996. Seed hidrattation memory in Sonora desert cacti and its ecological implications. *American Journal of Botany*, 83(5):624-632
- Escobar, S. V. y F. Huerta. 1999. Relaciones ecológicas de *Ferocactus lustrix* (DC.) Lindsay en los llanos de Ojuelos, Jalisco-Zacatecas. *Cactaceas y Suculentas Mexicanas*, 44:40-48
- Fearn, B. 1981. Seed germination: the modern approach. *The Cactus and Succulent Journal of Great Britain*, 43:13-16
- Flores, L. 2002. Estudio embriológico de *Opuntia tomentosa* Salm-Dyck var. *tomentosa* Salm-Dyck (Cactaceae). Tesis Licenciatura, Biólogo. Facultad de Ciencias, UNAM, México. 79 pp
- Godínez-Álvarez, H. y A. Valiente-Banuet. 1998. Germination and early seedling growth of Tehuacán Valley cacti species: the role of soils and seed ingestion by dispersers on seedling growth. *Journal of Arid Environments*, 39:21-31
- Martínez, R., G. Manzanero y A. Flores. 2001. Propagación sexual y crecimiento de plántulas de *Stenocereus treleasei* (Britton & Rose) Backeb. En: *Resúmenes del XV Congreso Mexicano de Botánica*, del 14 al 19 de octubre, Jurica, Querétaro.
- Murashige, T. y F. Skoog. 1962. A revised médium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*, 15:473-487
- Nolasco, H., F. Vega-Villasante; H. L. Romero-Schmidt y A. Diaz-Rondero. 1996. The effects of salinity, acidity, light and temperature on the germination of seeds of cardón (*Pachycereus pringlei* (S.Wats.) Britton & Rose, Cactaceae). *Journal of Arid Environments*, 33:87-94

- Nolasco, H.; F. Vega-Villasante y A. Diaz-Rondero. 1997. Seed germination of *Stenocereus thurberi* (Cactaceae) under different solar irradiation levels. *Journal of Arid Environments*, 36:123-132
- Olvera, C. Y. 2001. *Estudio ecofisiológico de la germinación sobrevivencia y crecimiento de Opuntia tomentosa S.D. en la Reserva del Pedregal de San Ángel*. Tesis: Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM. México. 98pp
- Rojas-Aréchiga, M.; A. Orozco-Segovia y C. Vázquez-Yanes. 1997. Effect of light on germination of seven species of cacti from the Zapotitlán Valley in Puebla, México. *Journal of Arid Environments*, 36:571-578
- Rojas-Aréchiga, M. y C. Vázquez-Yanes. 2000. Cactus seed germination: a review. *Journal of Arid Environments*, 44:85-104
- Treviño, N. A., E. Morales, R. Rodríguez y M. Cárdenas. 2001. Crecimiento de *Acanthocereus occidentalis* Britton and Rose adicionados con tres diferentes medios (Cactus plus, Murashige Skoog, Shive). En: *Resúmenes del XV Congreso Mexicano de Botánica*, del 14 al 19 de octubre, Jurica, Querétaro.
- Vleeshouwers, L., H. Bouwrneester y C. Karsen. 1995. Redefining seed dormancy: an attempt to integrate physiology and ecology. *Journal of Ecology*, 83:1031-1037

CAPÍTULO III

Evaluación de las tasas de intercambio de CO₂ y de vapor de agua en plántulas de *Polaskia chichipe* y *Echinocactus platyacanthus* bajo condiciones de estrés hídrico

INTRODUCCIÓN

El metabolismo, como un conjunto de procesos que suceden en el organismo, es una función que responde a las condiciones externas de disponibilidad de los requerimientos físicos de la planta y a las condiciones internas de desarrollo y madurez. El metabolismo primario es el primero en responder cuando la planta se encuentra frente a un estrés, para evitar que dicha condición dañe tejidos u órganos; de esta manera la planta trata de conservar un equilibrio homeostático con el ambiente (Taiz y Zeiger, 1991).

En las plantas, los flujos de materiales pueden ser indicadores del metabolismo. Por ejemplo, es posible determinar si un órgano es productor o demandante de recursos mediante la medición de los flujos de agua en el floema o del intercambio gaseoso. Como ya se conoce, precisamente el agua y el carbono son los principales constituyentes de las plantas, y su balance dentro de ellas se define por los flujos de materiales de un sitio a otro y con el medio externo. El balance de carbono está mediado básicamente por flujos de CO₂ (fotosíntesis, respiración y fotorrespiración). El balance hídrico está influido principalmente por la toma de agua por las raíces y otras superficies (epidermis) y su pérdida a través de la transpiración (Von Willert *et al.*, 1992), que según Kramer (1974) puede definirse como la pérdida de agua de las plantas en forma de vapor. El ambiente tiene un papel fundamental en la dirección de los flujos y en su distribución espacio-temporal, observándose modificaciones en este proceso como respuesta a una condición adversa, lo cual suele denominarse como estrés (Nilsen y Orcutt, 1996).

Dada la trascendencia que tiene la disponibilidad de agua como fuente para los procesos de la fotosíntesis y transpiración, es importante el estudio de las respuestas de los organismos frente a una condición estresante, en especial ante la baja disponibilidad de agua, en etapas de desarrollo que son cruciales como es el estado de plántula.

Captura de carbono y fotosíntesis

Algunos de los factores que influyen en la fotosíntesis son: la disponibilidad de agua y nutrimentos, la concentración de CO₂, la luz y la temperatura (Salisbury y Ross, 1994).

Cuando el potencial hídrico del suelo es mayor a -0.3 MPa, tal como sucede después de una lluvia, ocurre una toma continua de agua, los estomas pueden abrirse plenamente y la asimilación neta de CO_2 puede ser máxima (Nobel, 1998). Pero en el momento en el cual el potencial hídrico del suelo se reduce considerablemente (por debajo del potencial hídrico de la raíz), el suministro de agua comienza a ser una limitante, de inmediato se retarda la expansión celular, el crecimiento disminuye y poco más tarde los estomas empiezan a cerrarse, con la consecuente disminución de la captura de CO_2 (Salisbury y Ross, 1994; Nobel, 1998).

El cierre estomático causa un agotamiento del CO_2 en los espacios intercelulares. Este fenómeno es llamado inhibición estomática de la fotosíntesis, en contraste con la que se da por la deficiencia del sustrato agua para las reacciones químicas (Nilsen y Orcutt, 1996).

Transpiración

Los factores ambientales más importantes que afectan la transpiración son: la intensidad lumínica, la presión de vapor de agua atmosférica, la temperatura, el viento y el suministro de agua a las raíces (Colinas, 1982). Los factores inherentes a la planta son la extensión y eficiencia de los sistemas radicales en la absorción, el área foliar, el arreglo y estructura de las hojas (Colinas, 1982), así como la estructura y comportamiento de los estomas, los cuales operan de acuerdo a los principios físicos que rigen la evapotranspiración (Kramer, 1974).

El contenido de humedad del aire (humedad relativa) ejerce un marcado efecto sobre la transpiración, pues modifica el gradiente bajo el cual se difunde el vapor de agua; a su vez, la temperatura afecta también de manera considerable este valor (Lira, 1994). Por su parte, el suministro de agua a las raíces influye sobre la velocidad de transpiración; en un suelo con alta cantidad de humedad, el movimiento de agua hacia las raíces es rápido y la velocidad de transpiración está controlada por los factores atmosféricos y los intrínsecos de la planta (Colinas, 1982).

Bajo condiciones de estrés hídrico los estomas se cierran para reducir la evaporación del agua, lo cual se puede considerar una defensa en contra de la sequía (Taiz y Zeiger, 1991); sin embargo, la pérdida de agua a través de la cutícula no puede despreciarse, en especial en plantas que no poseen cutículas gruesas como sucede en las plántulas de suculentas (Jordan y Nobel, 1982).

El estrés hídrico suele afectar a la conductancia estomática y la actividad fotosintética. Desde que ocurre el cierre estomático durante las primeras etapas del estrés hídrico, la eficiencia en el uso de agua puede incrementarse (más CO₂ asimilado por unidad de agua transpirada) debido a que el cierre estomático inhibe la transpiración más que disminuir la concentración intercelular de CO₂; pero después, a medida que transcurre el estrés, la deshidratación del mesófilo inhibe la fotosíntesis (Taiz y Zeiger, 1991).

Es por ello que, para hacer más eficiente el uso del agua en ambientes estresantes, algunos grupos de plantas han desarrollado modificaciones del proceso fotosintético para evitar perder demasiada agua y seguir capturando CO₂ como son el metabolismo C₄ y el metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM).

Metabolismo Ácido de las Crasuláceas

El metabolismo ácido de las crasuláceas, conocido como CAM por sus siglas en inglés, es un mecanismo concentrador de CO₂ y ahorrador de agua, que se presenta especialmente en las plantas adaptadas a los ambientes áridos, con sequías periódicas o con sustratos pobres; se considera que las cactáceas (con excepción de la Subfamilia Pereskioideae) poseen este mecanismo. En plantas CAM pueden separarse temporalmente las fases de asimilación de carbono, ya que básicamente el CO₂ se fija en la noche y se procesa al día siguiente; de esta manera se asegura el suministro de carbono y se disminuye el riesgo de pérdida de agua. La apertura estomática ocurre durante la noche, cuando la diferencia de presión de vapor de agua entre los espacios intercelulares cercanos a los estomas y el aire exterior es menor que durante el día. El carbono absorbido en forma de CO₂ durante la noche se fija en el fosfoenol pirúvico para dar lugar finalmente a ácido málico que se almacena en las vacuolas; mientras que en el día hay cierre estomático, descarboxilación del ácido málico y reducción del carbono en carbohidratos (Taiz y Zeiger, 1991; Larcher, 1991).

El CAM adquiere gran importancia ya que las plantas que poseen este metabolismo presentan los valores más altos en eficiencia del uso del agua que se hayan registrado en plantas superiores (Han y Felker, 1997).

Existe un rango de variación en el comportamiento de las plantas CAM, desde las facultativas, que pueden cambiar de CAM a C₃ o viceversa dependiendo de las condiciones en el ambiente (fotoperiodo, salinidad alta, déficit hídrico, etc.) o del desarrollo (edad, madurez fisiológica, etc.), hasta las CAM obligadas. Una variante, el "CAM cycling", se caracteriza por fluctuaciones en ácidos de cuatro átomos de carbono, ausencia de cierre estomático durante el día, y reducida o nula absorción de CO₂ durante la noche. Otro modo es el "CAM idling", que ocurre

bajo condiciones extremas de estrés ambiental, donde los estomas permanecen cerrados de día y de noche; no obstante, hay fluctuaciones diurnas en ácidos orgánicos como resultado de la refijación del CO₂ que se produce en la respiración (Cushman y Bohnert, 1997, 1999). Esta última variación se ha reportado para *Hylocereus undatus* (Cactaceae) (Ortiz *et al*, 1999).

Estudios ecofisiológicos del CAM en cactáceas

Como ya se mencionó, a excepción del género *Pereskia*, todas las cactáceas estudiadas presentan metabolismo CAM, aunque se ha visto que las especies del género *Opuntia* puede ser CAM facultativas (Nobel, 1998).

En *Opuntia robusta* las mayores tasas de asimilación de CO₂ están correlacionadas con una mayor humedad relativa nocturna, la cual permite una mayor apertura estomática sin pérdida de agua excesiva (Pimienta-Barrios *et al*, 2002). Un resultado similar obtuvieron Graham y Nobel (1999), quienes determinaron que, en condiciones de buena disponibilidad de agua, la asimilación de CO₂ y la transpiración de *Agave deserti* ocurre principalmente durante la noche, mientras que la toma de agua por las raíces es relativamente constante durante todo el día.

Al principio de la época de sequía la asimilación neta diaria de CO₂ no se afecta notoriamente en agaves y cactus. La apertura de los estomas y las reacciones bioquímicas conducentes a la fijación de CO₂ están plenamente sustentadas por el agua almacenada en los tallos suculentos. De tal manera que durante las primeras etapas de la sequía, la asimilación neta de CO₂ permanece cercana al máximo dependiendo de la relación entre el volumen de agua almacenada en los tallos y la superficie de transpiración. A medida que continua la sequía, en la mayoría de las plantas CAM la apertura máxima de los estomas sucede avanzada la noche y la asimilación neta diaria de CO₂ disminuye hasta llegar a cero (Nobel, 1998). Cuando las plantas vuelven a estar expuestas a buenas condiciones de humedad la tasa de asimilación de CO₂ no se recupera al 100% inmediatamente, aunque sí la toma de agua por las raíces (Graham y Nobel, 1999).

Otros trabajos se han enfocado al papel que tiene la madurez de la planta u órganos en la captura de CO₂ y la transpiración. De los estudios que se han hecho con *Opuntia ficus-indica* se ha visto que los frutos permanecen verdes hasta su madurez, y además están fotosintéticamente activos durante ese tiempo (Nobel y de la Barrera, 2000); aunque al igual que los cladodios jóvenes, no son completamente autosuficientes (Wang *et al*, 1997). En poblaciones naturales de *Agave cocui* se ha registrado que la capacidad de síntesis de ácidos orgánicos por unidad de masa fotosintética es mucho mayor en plantas adultas que en jóvenes y en plántulas (Peña *et al*, 1998).

Modificación del CAM en cultivos *in vitro*

Los ambientes *in vitro* mantienen generalmente valores de humedad relativa cercanos a la saturación y, como consecuencia, las plantas que se producen por esos métodos al parecer no requieren tener un control obligado de la pérdida de agua. La aclimatación de plantas obtenidas *in vitro* es entonces crítica para prevenir una pérdida excesiva de agua en un medio natural (Malda *et al*, 1999). En *Obregonia denegrei* y *Coryphantha minima*, se observó que el cultivo *in vitro* aceleró notablemente el crecimiento, el cual estuvo relacionado con un incremento de la acidez titulable por el aumento en la tasa de asimilación de CO₂ (Backhaus *et al*, 1998; Malda *et al*, 1999). Cuando una planta obtenida *in vitro* es transplantada a condiciones *ex vitro*, las plantas revierten las tasas de fijación de CO₂ a los niveles más bajos que generalmente se presentan (Malda *et al*, 1999).

Por el contrario, Garrido y Montiel (1999) afirman que el cultivo *in vitro* de *Chamaecereus silvestrii* produce condiciones estresantes para la planta, y que el cambio a condiciones *ex vitro* influye en el funcionamiento y eficiencia de la fotosíntesis en las plantas ya que posibilitó el aumento de la tasa de fotosíntesis, reflejada en los niveles de acidez titulable, los que fueron aumentando progresivamente a lo largo del periodo de aclimatación al suelo.

Metabolismo de las plántulas de cactáceas

De acuerdo a Altesor *et al* (1992) las plántulas de la Subfamilia Cactoideae presentan metabolismo C₃ durante las primeras semanas después de la germinación, pero entre los 70 y 140 días de edad cambian a CAM. Una memoria ontogénica revela la presencia de un metabolismo C₃ durante el desarrollo temprano de plantas que son típicamente CAM en etapas adultas, lo cual tiene implicaciones en la sistemática, la ecología, y la morfofisiología de estas especies (Altesor *et al*, 1992). Al respecto, Loza *et al* (2002) encontraron que en plántulas de *Stenocereus queretaroensis* de 392 días de edad hubo fluctuaciones de ácido málico de día y noche que indican metabolismo C₃, y sugieren que el CAM se presenta de manera facultativa o en plántulas de mayor edad.

El metabolismo ácido de las crasuláceas da por resultado un crecimiento lento que puede ser una desventaja durante las etapas de plántula (Jordan y Nobel, 1979). El crecimiento rápido que caracteriza a las plantas C₃ les permite a las plántulas enraizar y crecer rápidamente para escapar al periodo crítico de establecimiento y entonces incrementar las posibilidades de sobrevivencia. El metabolismo C₃ es importante en etapas juveniles porque implica la apertura diurna de los estomas y la posibilidad de termorregulación a través de la transpiración, con la consecuente

disminución de las probabilidades de daño debido a la temperatura (Altesor *et al.*, 1992).

Presumiblemente la duración del periodo de disponibilidad de agua para las plántulas puede cambiar el tiempo de activación del metabolismo C₃ a CAM (Altesor *et al.*, 1992). No obstante muchos otros factores microambientales (no sólo la edad y la disponibilidad de agua) pueden estar jugando un papel importante en la activación del CAM, como la irradiación y los nutrientes (Bermejo, 1993).

Por otra parte, la sensibilidad de la respuesta estomática al CO₂ difiere entre estados juveniles y adultos. En plántulas, cuando aumenta la concentración interna de CO₂, hay una disminución de la conductancia al vapor de agua de tal manera que cuando la fijación neta de CO₂ decrece, la pérdida de agua se minimiza; sin embargo dicho comportamiento se va perdiendo con la edad, y en plantas adultas la concentración de CO₂ necesaria para inhibir la conductancia estomática al agua debe ser mucho mayor (Jordan y Nobel, 1979).

OBJETIVO

- Evaluar la tasa de intercambio de CO₂ y de vapor de agua en plántulas *P. chichipe* y *E. platyacanthus* de distintas edades en estrés hídrico.

METODOLOGÍA

Material biológico

Para la obtención de las plántulas se pusieron a germinar 200 semillas de *P. chichipe* y 300 de *E. platyacanthus*, estas últimas con pretratamiento de escarificación en ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄(conc)) durante 15 segundos. Las semillas se desinfectaron según lo descrito en el Capítulo II y se sembraron en medio MS 50%-Sacarosa 15 gL⁻¹-Agar 1 gL⁻¹. Se tomó la fecha de germinación de cada semilla para llevar el registro de la edad exacta de las plántulas y se mantuvieron en esas condiciones hasta que tuvieron 35 días de edad, momento en el cual 25 plántulas de *P. chichipe* y 32 de *E. platyacanthus* fueron transferidas a cada una de las dos siguientes condiciones de disponibilidad de agua en medios líquidos con puentes de papel filtro (50 y 74 plántulas en total respectivamente, Figuras III-1 y III-2):

- Control. Medio líquido MS 50%-Sacarosa 15 g L⁻¹ ($\psi_H = -0.197$ MPa)
- Estrés hídrico. Medio líquido MS 50%-Sacarosa 15 g L⁻¹-Manitol 101.76 g L⁻¹ ($\psi_H = -1.519$ MPa)

Todos los cultivos se incubaron a 25°C ± 1, fotoperiodo 16h luz/8h oscuridad, intensidad luminosa de 11960-15640 μmol m⁻² s⁻¹ en una cámara de ambiente controlado.

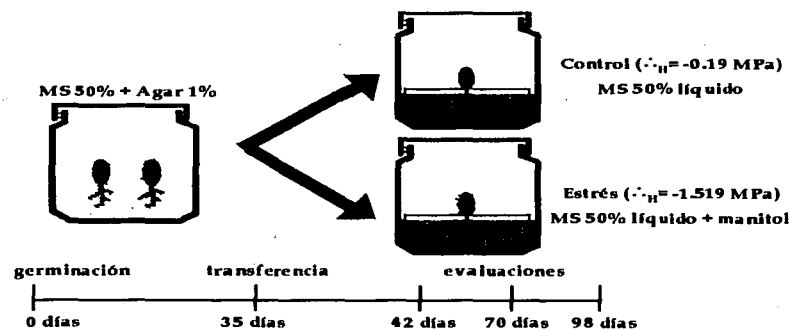


Figura III-1. Metodología general de las condiciones experimentales.

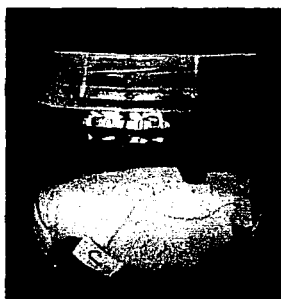


Figura III-2. Cultivo *in vitro* de plántulas en medio MS 50% líquido.

Medición de las tasas de intercambio de CO₂ y de vapor de agua

En este trabajo se utilizó un analizador infrarrojo de gases (IRGA, Qubit Systems, Ontario) de sistema abierto y diferencial que permite la medición de moléculas heteroatómicas como CO₂, H₂O, NH₃, CO, N₂O, etc. (Acosta, 1996) para determinar tasas de intercambio de CO₂ y de vapor de agua, según la metodología que se desarrolla a continuación:

1. Se realizaron evaluaciones a los 42, 70 y 98 días de edad (7, 35 y 63 días después del trasplante respectivamente) en el IRGA para determinar: captura/liberación de CO₂ y salida/entrada de vapor de agua. Una hora previo al inicio de las mediciones los frascos de cultivo se sacaron de la cámara de ambientes controlados y el IRGA fue estabilizado. Al momento de la medición se extrajo la plántula del frasco de cultivo y se colocó en la cámara del IRGA (Figura III-3). Para cada plántula se realizaron dos mediciones de 20 minutos cada una, dentro de un intervalo de dos horas: diurna (de las 1200 a las 1400) y nocturna (de las 2100 a las 2300). El diseño experimental para cada especie fue de 2 tratamientos de disponibilidad de agua por 3 edades, para un total de 6 plántulas por repetición, medidas en 2 horas del día (*P. chichi*pe n=6 y *E. platyacanthus* n=9). En total se evaluaron 36 plántulas con 72 mediciones de *P. chichi*pe y 54 plántulas con 108 mediciones de *E. platyacanthus*.).
2. Después de las mediciones, la plántula se sacó de la cámara del IRGA, se le tomó una fotografía digital, se midieron el largo (de la base al ápice) y el diámetro mayor, y se calculó el área superficial y volumen para lo cual se supuso que las plántulas tienen forma cilíndrica. Se utilizó un microscopio estereoscópico (Zeiss), una cámara digital (Sony), y el programa de computo analizador de imágenes "Zeiss Image 3.0".
3. Con los datos obtenidos del IRGA y las dimensiones de la plántula se calcularon las siguientes variables, según Pearcy *et al* (1991) (consultar Apéndice III):
 - Tasa de intercambio de CO₂
 - Tasa de intercambio de vapor de agua



Figura III-3. Plántula al momento de una medición en la cámara del IRGA.

Considerando que el tamaño de las plántulas fue irregular (ver Capítulo IV), así como el hecho de que en plántulas tan pequeñas la actividad fotosintética se realiza en magnitudes similares en toda la superficie, se

creyó conveniente calcular y analizar la tasa de intercambio de CO₂ considerando como unidad a la plántula.

4. Con el programa Statistica 98, se realizó un Análisis de Covarianza (ANDECO) de 4 vías: edad, tratamiento, especie y hora del día (diurna/nocturna) con 2 covariables (temperatura y humedad relativa del aire circundante al momento de la medición) para las variables antes mencionadas, así como análisis de correlación entre las tasas de intercambio de CO₂ y de agua.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tasa de intercambio de CO₂

El comportamiento de la tasa de intercambio de CO₂ en *P. chuchipe* fue similar entre tratamientos (Figura III-4). En general se observó que a los 42 días de edad el tratamiento Control tuvo una tasa positiva durante el día y en la noche negativa al igual que en el tratamiento Estrés; a los 70 días las tasas fueron siempre positivas pero con incremento hacia la noche. A los 98 días en el tratamiento Control hubo asimilación de día y noche, y en el tratamiento Estrés sólo durante la noche. Es precisamente a esa edad, en el día, donde se aprecia la mayor diferencia de los valores entre los tratamientos.

En *E. platyacanthus* (Figura III-4) el comportamiento de la tasa de intercambio de CO₂ fue también similar entre tratamientos en la mayoría de las edades. A los 42 días de edad el tratamiento Estrés tuvo mayores valores que el del tratamiento Control durante el día; a los 70 días en ambos tratamientos hubo valores positivos en la noche, mayor por casi el doble en el tratamiento Control. A los 98 días de edad en ambos tratamientos hubo intercambio de día y de noche, pero en el tratamiento Estrés el valor fue menor de día y mayor de noche respecto al del Control (Tabla III-1).

El análisis estadístico confirmó que no hubo diferencias significativas debidas a la especie ($F_{(1,129)}=0.1810$; $p=0.67$), tratamiento ($F_{(1,129)}=0.3089$; $p=0.57$), edad ($F_{(2,129)}=2.64$; $p=0.07$) ni hora del día ($F_{(1,129)}=1.47$; $p=0.22$).

Ni la temperatura ($\beta=0.13$; $p=0.16$) ni la humedad relativa ($\beta=0.11$; $p=0.23$) fueron covariables significativas. Sin embargo, se observó que cuando la temperatura del aire circulante en el IRGA fue de 11°C o menos, las conductancias al vapor de agua y al CO₂ fueron muy bajas, indicando la importancia de estos factores en el proceso de intercambio de gases, tal como lo señalan Pimienta-Barrios *et al* (2002).

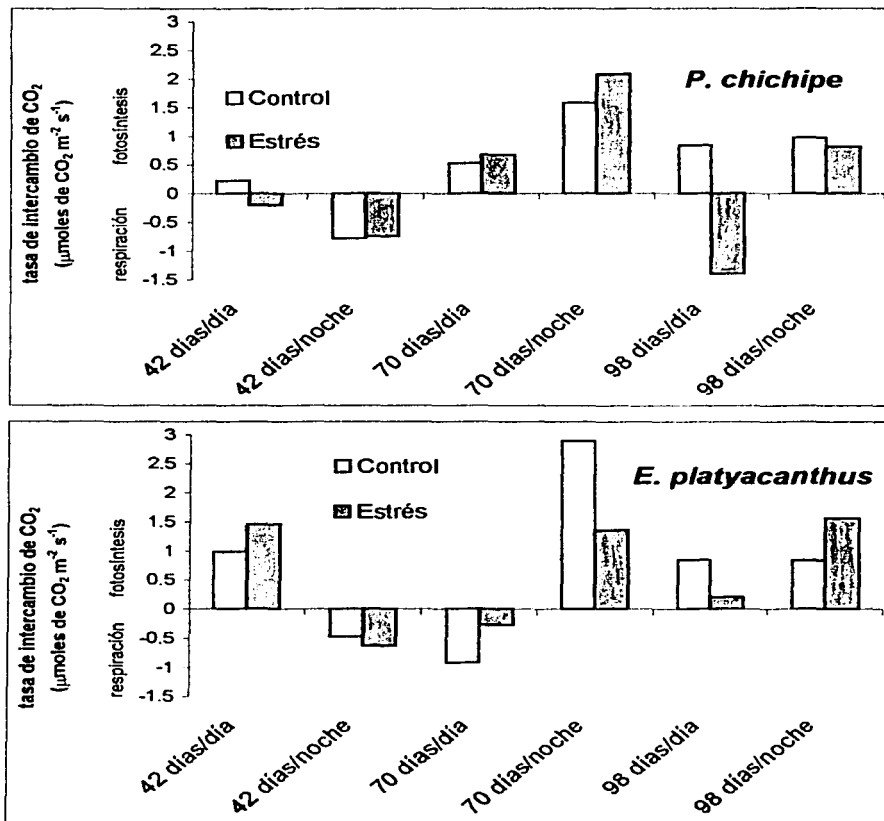


Figura III-4. Tasas de intercambio de CO₂ de *Polaskia chichipe* (arriba) y *Echinocactus platyacanthus* (abajo), en los tratamientos Control (blanco) y Estrés (oscuro), en 3 edades, de día y de noche. Valores positivos indican fotosíntesis mientras que los negativos indican respiración.

Tabla III-1. Tasa de intercambio de CO₂ por especie, hora del día, tratamiento y edad. Se presentan las medias con su respectiva desviación estándar. Letras distintas en todas las columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) según la prueba de Mínima Diferencia Significativa (LSD). Unidades = $\mu\text{moles de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Valores positivos indican asimilación de CO₂ mientras que los negativos indican respiración.

Especie		Tratamiento	Edad 1 (42 días)	Edad 2 (70 días)	Edad 3 (98 días)
<i>P. chichiye</i>	día	Control	0.2245 ± 1.12 ab	0.5278 ± 1.37 ab	0.8440 ± 1.31 ab
		Estrés	-0.2015 ± 1.82 a	0.6801 ± 1.65 ab	-1.3900 ± 3.72 a
	noche	Control	-0.7733 ± 1.73 a	1.5773 ± 1.20 ab	0.9723 ± 0.15 ab
		Estrés	-0.7454 ± 1.14 a	2.0784 ± 2.06 ab	0.81252 ± 0.40 ab
<i>E. platycanthus</i>	día	Control	0.9866 ± 2.34 ab	-0.9200 ± 2.82 a	0.8428 ± 3.33 ab
		Estrés	1.4585 ± 4.02 ab	-0.2781 ± 2.51 a	0.2107 ± 2.00 a
	noche	Control	-0.4688 ± 2.84 a	2.8943 ± 5.71 b	0.8317 ± 1.34 ab
		Estrés	-0.6341 ± 1.74 a	1.3591 ± 3.14 ab	1.5658 ± 1.86 ab

El cálculo de las tasas de intercambio de CO₂ para la plántula completa tuvieron el objetivo de determinar si se encontraban diferencias en la intensidad de asimilación debidas al tamaño (Tabla III-2). Las tendencias fueron similares, como era de esperarse, pero, no hubo diferencias significativas debidas a la especie ($F_{(1,129)}=0.0004$; $p=0.98$), tratamiento ($F_{(1,129)}=0.27$; $p=0.60$), ni hora del día ($F_{(1,129)}=0.75$; $p=0.38$), aunque sí debidas a la edad ($F_{(2,129)}=3.59$; $p=0.0302$). Tampoco las covariables temperatura ($\beta=0.13$; $p=0.15$) y humedad relativa ($\beta=0.11$; $p=0.22$) fueron significativas en el análisis.

El comportamiento de la tasa de intercambio de CO₂ durante los primeros 98 días de edad en las especies estudiadas no mostró una tendencia definida respecto a un metabolismo CAM o C₃, sino más bien una alternancia entre ellos, indicando que el efecto del estrés no se manifestó claramente. Sin embargo, debe destacarse que en *P. chichipe* a los 98 días de edad en el tratamiento Estrés, con una baja disponibilidad de agua durante 63 días, se registró la alternancia día-noche del metabolismo CAM. Altesor *et al* (1992) señalan que en plántulas de cactáceas (con excepción de la subfamilia Pereskioideae) el CAM se activa entre los 70 y 140 días después de la germinación, y sugieren que la disponibilidad de agua podría acelerar este cambio.

De acuerdo a Nobel (1998), la asimilación máxima de CO₂ se da cuando el potencial hídrico del suelo está por encima de -0.3 MPa. En el presente trabajo el estrés hídrico provocado por la solución de -1.5 MPa aparentemente no fue suficiente para inducir una respuesta fotosintética tipo CAM, o tal vez pudiera haber sido una respuesta de la variante CAM idling como lo reportan Ortiz *et al* (1999) en *Hylocereus undatus*, o que el tiempo de activación del CAM sea un proceso multifactorial en el que también estén involucrados otros tipos de estrés, como el exceso de luz, deficiencia o exceso de nutrientes, etc.

En el presente trabajo los resultados sugieren que en las edades estudiadas la disponibilidad de agua no fue un factor determinante para la inducción del CAM, pero tampoco permiten distinguir un metabolismo de tipo C₃. Lo anterior es parcialmente congruente con lo encontrado en plántulas de *Stenocereus queretaroensis* de hasta 392 días de edad las cuales, según Loza *et al* (2002), se comportaron como C₃ y sugieren que el CAM se puede presentar facultativamente o en edades posteriores. Los resultados obtenidos en éste experimento y los reportados por otros autores (Altesor *et al*, 1992; Loza *et al*, 2002) también sugieren una temporalidad de activación del CAM diferente para cada especie.

Respecto a los valores de intercambio de CO₂, Peña *et al* (1998) mencionan que la actividad fotosintética en suculentas juveniles es baja, coincidiendo con los resultados obtenidos en este trabajo, y que pudieran ser una explicación para algunos de los valores negativos encontrados. Matekaire (2001) obtuvo valores

negativos en la tasa de intercambio de CO₂ en caña de azúcar bajo estrés hídrico. El autor señala que la necesidad de CO₂ para la fotosíntesis implica que dentro de los espacios intercelulares se debe alcanzar un nivel suficiente para sobrepasar el punto de compensación de CO₂. Por lo tanto se requiere cierto grado de conductividad de los estomas. En cambio, las pequeñas cantidades de CO₂ que se producen por la respiración se acumulan en el mesófilo y pueden difundir al exterior porque se crean gradientes importantes entre el tejido fotosintético y el exterior. Esta salida no ocurre necesariamente por los estomas, sino que es posible la difusión por la epidermis y la cutícula ya que tienen cierto grado de permeabilidad a los gases en general (CO₂, agua y O₂ principalmente). En este sentido Jordan y Nobel (1982) mencionan que las cutículas de las plántulas de suculentas son muy delgadas, lo cual haría factible la propuesta de difusión de gases a través de ésta.

Tabla III-2. Tasa de intercambio de CO₂ por plántula, especie, hora del día, tratamiento y edad. Se presentan las medias con su respectiva desviación estándar. Letras distintas en todas las columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) según la prueba de Mínima Diferencia Significativa (LSD). Unidades = $\mu\text{moles de CO}_2 \text{ plántula}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Valores positivos indican asimilación de CO₂ mientras que los negativos indican respiración.

Especie		Tratamiento	Edad 1 (42 días)	Edad 2 (70 días)	Edad 3 (98 días)
<i>P. chichi</i>	día	Control	0.3606 ± 2.35 ab	1.4174 ± 3.51 ab	3.4205 ± 4.56 ab
		Estrés	-0.6782 ± 2.86 ab	1.4617 ± 3.44 ab	-1.9134 ± 8.03 ab
	noche	Control	-1.3362 ± 3.69 ab	3.7521 ± 2.69 ab	3.3205 ± 0.38 ab
		Estrés	-1.3498 ± 2.03 ab	4.2132 ± 4.38 ab	2.1156 ± 1.20 ab
<i>E. platyacanthus</i>	día	Control	2.3792 ± 5.84 ab	-1.2098 ± 4.85 ab	2.2343 ± 6.98 ab
		Estrés	3.1061 ± 8.95 b	-0.1771 ± 4.32 ab	0.5536 ± 5.21 ab
	noche	Control	-2.2125 ± 6.92 a	3.4677 ± 9.66 b	2.5047 ± 3.73 ab
		Estrés	-1.5914 ± 4.35 ab	3.0730 ± 5.13 b	4.2524 ± 4.88 b

Tasa de intercambio de vapor de agua

Las tasas de intercambio de agua tuvieron en algunos casos valores negativos que aparentemente no fueron producto de la forma en la cual se realizaron las mediciones, sino de la temperatura del aire circulante en el IRGA que en algunas ocasiones fue baja (11°C o menos). Dado que las mediciones debían tomarse a una edad determinada de las plántulas, no siempre las lecturas se realizaron en un mismo día, razón por la cual la temperatura del aire varió. De acuerdo a Nobel (com pers, 2002) el hecho de que pueda haber entrada de agua (absorción) a través de los estomas puede ocurrir solamente si el potencial hídrico fuese mayor en el aire que en la fase gaseosa del interior de las plántulas, o que la temperatura fuera considerablemente baja para las plántulas.

Es por lo anterior que se consideró pertinente presentar los resultados de tasas de intercambio de agua (Figura III-5), interpretándose los valores positivos como transpiración y se sugiere que los valores negativos podrían ser absorción de agua por los estomas; además la tasa de intercambio de agua presentó de manera general una tendencia similar a la de las tasas de intercambio de CO₂ sugiriendo una cierta respuesta metabólica acorde de intercambio gaseoso.

En *P. chilchipe* hubo concordancia entre las tasas en el tratamiento Control a los 42 y 70 días en la noche y a los 98 tanto de día como de noche. En el tratamiento Estrés hubo concordancia a los 42 y 98 de día y de noche.

En *E. platyacanthus* las concordancias entre el proceso de intercambio de CO₂ y la de intercambio de agua se presentaron en el tratamiento Control en la mayoría de los casos excepto a los 42 días de noche y 70 de día; y en el tratamiento Estrés la concordancia no se presentó a los 70 días de noche.

El análisis estadístico confirmó que no hubo diferencias significativas entre especies ($F_{(1,129)}=0.018$; $p=0.893$), tratamientos ($F_{(1,129)}=3.069$; $p=0.082$) ni hora del día ($F_{(1,129)}=2.094$; $p=0.150$), pero sí debidas a la edad ($F_{(2,129)}=4.551$; $p=0.012$).

Con base a la prueba de LSD se observó que las diferencias significativas entre edades se registraron a los 70 días del tratamiento Estrés de día y de noche con respecto a las otras dos edades (Tabla III-3).

De las covariables consideradas en el modelo la temperatura fue significativa ($\beta=0.36$; $p<0.01$) pero no la humedad relativa ($\beta=-0.14$; $p=0.08$). Este resultado apoya la idea de que la temperatura ejerce un efecto significativo sobre la tasa de intercambio de agua. Cabe señalar que aunque la humedad relativa no tiene un efecto significativo en la tasa de intercambio de agua, puede ejercer un efecto negativo sobre ésta.

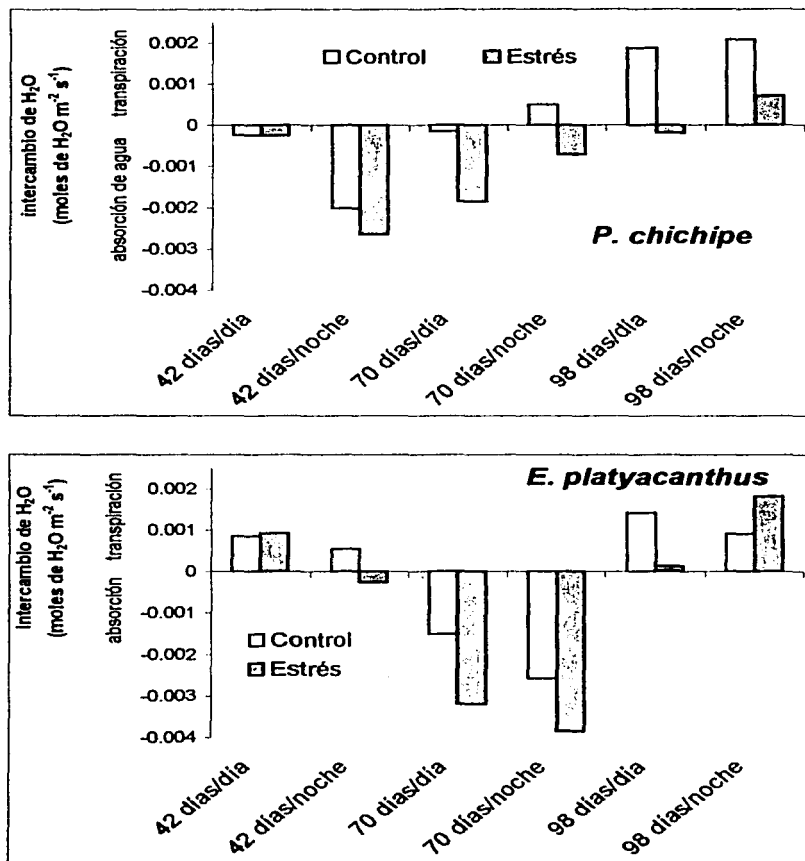


Figura III-5. Tasas de intercambio de agua de *Polaskia chichipe* (arriba) y *Echinocactus platyacanthus* (abajo), en los tratamientos Control (blanco) y Estrés (gris), en 3 edades, de día y de noche.

Tabla III-3. Tasa de intercambio de agua por especie, hora del día, tratamiento y edad. Se presentan las medias con su respectiva desviación estándar. Letras distintas en todas las columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) según la prueba de Mínima Diferencia Significativa (LSD). Unidades = moles de H₂O m⁻² s⁻¹.

Especie		Tratamiento	Edad 1 (42 días)	Edad 2 (70 días)	Edad 3 (98 días)
<i>P. chichipe</i>	día	Control	-0.000237 ± 0.0025 bcde	-0.000142 ± 0.0014 abcde	0.001867 ± 0.0019 de
		Estrés	-0.000245 ± 0.0021 bcde	-0.001853 ± 0.0017 abcde	-0.000194 ± 0.0030 bcde
	noche	Control	-0.002012 ± 0.0029 abcd	-0.000497 ± 0.0020 bcde	0.002073 ± 0.0024 de
		Estrés	-0.002646 ± 0.0028 abc	-0.000706 ± 0.0018 abcde	0.000715 ± 0.0032 cde
<i>E. platyacanthus</i>	día	Control	0.000846 ± 0.0022 de	-0.001508 ± 0.0030 abcde	0.001409 ± 0.0021 e
		Estrés	0.000920 ± 0.0020 de	-0.00320 ± 0.0074 ab	0.000128 ± 0.0015 cde
	noche	Control	0.000534 ± 0.0010 cde	-0.002575 ± 0.0039 abc	-0.000908 ± 0.0018 cde
		Estrés	-0.000262 ± 0.0025 cde	-0.003849 ± 0.0084 a	0.001810 ± 0.0024 e

Los valores positivos de tasa de transpiratoria fueron por lo general muy bajos, lo que indica que independientemente del tratamiento, en ambas especies se manifestó un fuerte control de la pérdida de agua por transpiración.

Considerando la estrecha interrelación entre el proceso de intercambio de CO_2 y agua, se efectuó una correlación entre ambas variables; se encontró que fue significativa para *P. chichipe* ($r^2=0.7435$; $p<0.05$) pero no para *E. platyacanthus* ($r^2=0.0557$; $p>0.05$) (Figura III-6).

En *P. chichipe* a medida que se incrementa la tasa de intercambio de CO_2 , aumenta la tasa de intercambio de agua hasta llegar al punto en que la tendencia se revierte, y ahora mientras aumenta la asimilación de CO_2 , el intercambio de agua disminuye. Lo anterior es concordante con las observaciones de Jordan y Nobel (1979) quienes señalan que cuando la concentración de CO_2 aumenta, la conductancia al agua disminuye.

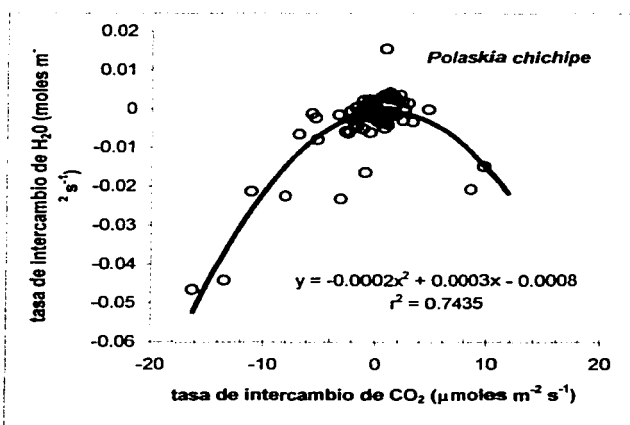


Figura III-6. Correlación ($p < 0.05$) entre tasa de intercambio de CO_2 y tasa de intercambio de agua en *Polaskia chichipe*.

Es importante resaltar que el estado de baja disponibilidad de agua fue simulado en condiciones *in vitro*. Malda *et al* (1999) señalan que las condiciones *in vitro* generan una saturación de vapor de agua en el ambiente, lo cual seguramente repercute en la transpiración de las plántulas al no ejercer un control de la pérdida de agua. Es por ello que las plántulas presentan una mayor capacidad para

asimilar CO₂, situación que se revierte cuando las plántulas son expuestas a condiciones *ex vitro* (Backhaus *et al*, 1998; Malda *et al*, 1999). Cabe resaltar que excepto por el evento del trasplante, las plántulas que fueron utilizadas en el experimento se mantuvieron en condiciones *in vitro* donde, como lo señala Malda *et al* (1999), posiblemente estaban en condiciones que favorecían la transpiración sin la necesidad de un control de la pérdida de agua. Pero en el momento de la medición (que se realizó en condiciones *ex vitro*), el microambiente que rodea a la plántula pudo haber cambiado sustancialmente y provocar una respuesta inmediata en el metabolismo de las plántulas que se viera reflejado en el análisis como patrones de comportamiento C₃ o CAM poco definidos. Un método para verificar si los resultados obtenidos en este trabajo son una respuesta inmediata provocada por la medición, es el de la determinación de la concentración de ácido málico por acidez titulable.

Cabe resaltar que el cálculo de la conductancia estomática (Pearcy *et al*, 1991) se ha diseñado para las condiciones típicas de transpiración que generalmente es positiva, sin embargo para los casos en que se registran valores negativos como en plántulas que se encuentran en condiciones de alta saturación de humedad o temperatura muy fría (Nobel *com pers*, 2002), la interpretación de una conductancia negativa puede tener problemas si se asume que un valor positivo significa apertura estomática y cuando tiende a cero es cierre estomático. Es probable que los valores negativos de conductancia estén indicando que el flujo de agua es hacia el interior de la plántula y al ser diferente de cero pueda interpretarse de igual manera como apertura estomática; no obstante para dicha suposición no hay trabajos comparables en plántulas de suculentas en los que se estudien los flujos de agua a través de los estomas, con los que se puedan contrastar los resultados obtenidos.

En cuanto a los aspectos metodológicos Pearcy *et al* (1991) plantean que aún falta por establecer si los instrumentos para medir intercambio de CO₂ y agua son útiles para mediciones en plantas CAM, que tienen baja conductancia estomática en las condiciones desérticas de alta irradiación, cuando las medidas de la temperatura del tejido y los cambios en la temperatura de la cámara pueden introducir errores sustanciales. Si bien este experimento se realizó en condiciones de laboratorio, en donde las plántulas no estuvieron sujetas a altas irradiaciones, si se encontró un efecto en la tasa transpiratoria por las bajas temperaturas, como se indicó previamente. Además los equipos IRGA están diseñados para medir hojas laminares, lo que podría ser una desventaja para evaluar plantas como las cactáceas (Hunt, *com pers* 2001); pero dado el tamaño de las plántulas fue posible introducirlas en la cámara, sin embargo no se descarta que haya habido algunos de los problemas señalados por Pearcy *et al* (1991) en cuanto a la baja conductancia estomática.

CONCLUSIONES

En las edades evaluadas las plántulas de *P. chichipe* y *E. platyacanthus* no presentaron un comportamiento fotosintético C₃ o CAM definido sino una alternancia de ambos.

El estrés hídrico aplicado a las plántulas de *P. chichipe* y *E. platyacanthus* no fue determinante para modificar significativamente las tasas de intercambio de CO₂ y transpiratoria hasta los 98 días de edad.

La temperatura del aire fue un factor que influyó en la tasa de intercambio de agua de las plántulas de *P. chichipe* y *E. platyacanthus* hasta los 98 días de edad.

En las plántulas de *P. chichipe* se observó una correlación significativa entre la tasa de intercambio de CO₂ y de agua.

REFERENCIAS

- Acosta, C. 1996. *Medición mediante el IRGA sistema abierto*. Colegio de Posgraduados, México.
- Altesor, A., E. Ezcurra. y C. Silva. 1992. Changes in the photosynthetic metabolism during the early ontogeny of four cactus species. *Acta Oecologica*, 13(6):777-785
- Backhaus, R., G. Malda y C. Martín. 1998. Alteraciones del metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM) en cactáceas cultivadas *in vitro*. En: *Libro de resúmenes, VII Congreso Latinoamericano de Botánica, XIV Congreso Mexicano de Botánica*, del 14 al 18 de octubre, Ciudad de México.
- Bermejo, G. S. 1993. *Ecofisiología de plántulas de Epiphyllum phyllanthus en la Isla de Barro Colorado, República de Panamá*. Tesis Licenciatura: Biólogo. ENEP-Iztacala, UNAM, México. pp5,77-78
- Colinas, L. T. 1982. *Apuntes para el tema de agua*. UACH-Fitotécnica, México.
- Cushman, J. y H. Bohnert. 1997. Molecular genetics of crassulacean acid Metabolism. *Plant Physiology*, 113:667-676
- Cushman, J. y H. Bohnert. 1999. Crassulacean acid metabolism: molecular genetics. *Annu Rev Plant Mol Biol*, 50:305-332
- Garrido, M. y J Montiel. 1999. Metabolismo ácido de crasuláceas en *Chamaecereus silvestrii* (Cactaceae) cultivada *in vitro* y durante su aclimatación al suelo. En: *Libro de Resúmenes del 2° Congreso Mexicano y 1° Congreso*

- Latinoamericano y del Caribe de Cactáceas y Otras Suculentas**, del 26 al 30 de octubre de 1999 en Oaxaca, México.
- Graham, E. y P. Nobel. 1999. Root water uptake, leaf water storage and gas exchange of a desert succulent: implications for root system redundancy. *Annals of Botany*, 84(2):213-223
- Han, H. y P. Felker. 1997. Field validation of water-use efficiency of the CAM plant *Opuntia ellisiana* in south Texas. *Journal of Arid Environments*, 36:133-148
- Jordan, P. y P. Nobel. 1979. Infrequent establishment of seedlings of *Agave deserti* (Agavaceae) in the Northwestern Sonoran Desert. *American Journal of Botany*, 66(9):1079-1084
- Jordan P. y P. Nobel. 1982. Height distribution of two species of cacti in relation to rainfall, seedling establishment, and growth. *Botanical Gazette* 143(4):511-517
- Kramer, P. 1974. *Relaciones hídricas de suelos y plantas*. EDUTEX, México.
- Larcher, W. 1991. *Physiological plant ecology*. Springer-Verlag, Berlin.
- Lira, S. R. 1994. *Fisiología vegetal*. Trillas, México.
- Loza, S., T. Terrazas, L. López y C. Trejo. 2002. Características morfo-anatómicas y del metabolismo fotosintético de plántulas de *Stenocereus queretaroensis*. En: *Libro de resúmenes del III Congreso Mexicano y II Latinoamericano y del Caribe sobre cactáceas y otras plantas suculentas*, septiembre del 2002, Tamaulipas, México.
- Malda, G., H. Suzán, y R. Backhaus. 1999. *In vitro* culture as a potential method for the conservation of endangered plants possessing crassulacean acid metabolism. *Scientia Horticulturae*, 81:71-87
- Matekaire, T. 2001. *Physiological differentiation of two varieties of sugar cane (Sacharum spp.) C-1051-73 and My-5514 under the influence of biotic and abiotic factors*. Tesis: MSc. Plant Physiology, University of Havana, 52 pp.
- Nilsen, E. y D. Orcutt. 1996. *The plant physiology of plants under stress*. John Wiley & Sons, Nueva York.
- Nobel, P. 1998. *Los incomparables Agaves y Cactus*. Trillas, México. 211pp.
- Nobel, P. y E. de la Barrera. 2000. Carbon and water balances for young fruits of platyopuntas. *Physiologia plantarum*, 109:160-166
- Ortiz, Y. M. Livera., M. Colinas y J. Carrillo. 1999. Water stress and CO₂ exchange rate of pitahaya (*Hylocereus undatus*). *Agrociencia*, 33(4):397-405
- Pearcy, R., J. Ehleringer., H. Mooney y P. Rundel. 1991. *Plant physiological ecology. Field methods and instrumentation*. Chapman and Hall, Londres.
- Peña, A., M. Granadillo y E. Depool. 1998. Efectos de intensidad de luz, los niveles de nitrógeno y la respuesta al riego en el CAM de *Agave cocui* (Trelease) en diferentes poblaciones. En: *Libro de resúmenes, VII Congreso Latinoamericano de Botánica, XIV Congreso Mexicano de Botánica*, del 14 al 18 de octubre, Ciudad de México.

- Pimienta-Barrios, E., González del Castillo-Aranda y P. Nobel. 2002. Ecophysiology of a wild platyopuntia exposed to prolonged drought. *Environmental and Experimental Botany*, 47:77-86
- Salisbury, F. y C. Ross. 1994. *Fisiología Vegetal*. Iberoamericana, México.
- Taiz, L. y E. Zeiger. 1991. *Plant Physiology*. Benjamín Cummings, California.
- Von Willert, D., B. Eller., M. Werner., E. Brinckmann. y H. Ihlenfeldt. 1992. *Life strategies of succulents in deserts*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Wang, N., H. Zhang y P. Nobel. 1997. Phloem-xilem water flow in developing cladodes of *Opuntia ficus-indica* during sink-to-source transition. *Journal of Experimental Botany*, 48(308):675-682

CAPÍTULO IV

Evaluación de variables histológicas en *Polaskia chichipe* y *Echinocactus platyacanthus*

De pronto, en medio de este silencio
parece posible simplemente vivir en la tierra.
Charles Simic

INTRODUCCIÓN

La morfofisiología de las plantas está dada por los factores particulares de la especie y por los factores ambientales. Uno de los cambios más evidentes de plantas de la misma especie que se encuentran en diferentes ecoclinas es la morfología. Las ecoclinas, como gradientes de factores físicos en su conjunto, generan una compleja gama de condiciones por las combinaciones que pueden desarrollar, y a las cuales las especies encuentran sus óptimos para ciertas condiciones, mientras que otras les son estresantes. En el caso concreto de las ecoclinas que producen condiciones estresantes, las plantas pueden presentar cambios morfoanatómicos producto de su plasticidad genética, que les facilita su sobrevivencia en ese ambiente, y que por lo general se refleja en alteraciones de la morfología y la anatomía de la planta. Dichos cambios se van produciendo a lo largo del tiempo con la finalidad de conservar la homeostasis interna y con el medio y pueden ser evaluados como transformaciones de la forma original hasta aclimataciones (ver Capítulo I).

La sobrevivencia de plántulas en ecotonos estresantes es complicada debido a que las dificultades que tienen para conservar la homeostasis son mayores que en una planta adulta. Las plántulas de cactáceas no son la excepción, y responden a las condiciones estresantes con modificaciones en su metabolismo (ver Capítulo III) y su estructura.

En general, el estudio de la anatomía de las cactáceas se ha enfocado a dilucidar las relaciones de parentesco entre especies y géneros, como el caso del estudio hecho para el género *Neovansia* (Herrera, 1999) o el de *Aporocactus* (Olalde, 2000); pero también se ha visto que el estudio de la anatomía puede ser importante para interpretar las adaptaciones de las cactáceas desde un punto de vista ecofisiológico, tal como se ha realizado en cultivos de importancia económica (Díaz, 1996).

Anatomía general de las cactáceas

La anatomía del tallo de una cactácea adulta está constituida en general, por una epidermis cubierta por una capa de cutina llamada cutícula (que usualmente está

muy engrosada en este tipo de plantas); debajo de la epidermis a veces es posible encontrar una hipodermis; más internamente se encuentra lo que constituye la mayor parte del cuerpo del tallo llamado córtex. En este último se distingue externamente el parénquima fotosintético e internamente el parénquima de reserva (encargado de almacenar agua, solutos, fotosintatos, etc.) que le confiere la succulencia, con células grandes donde la vacuola ocupa casi todo el protoplasma. En seguida está el cilindro vascular, que contiene a los haces vasculares conformados por xilema hacia el interior y floema hacia el exterior (Boke, 1980; Mauseth, 1984a y b; Gibson y Nobel, 1986).

La función básica del xilema en los haces vasculares es conducir agua y solutos en una dirección ascendente, principalmente a través de los vasos; mientras que el floema se encarga de transportar fotosintatos en dirección transversal, ascendente y descendente. Sin embargo también se ha visto que el floema puede ser el tejido vascular que aporta mayoritariamente agua a ciertos órganos, como en los cladodios jóvenes (Wang *et al.*, 1997) y en los frutos (Nobel y De la Barrera, 2000) de *Opuntia*.

El parénquima fotosintético de los tallos de los cactus de la subfamilia Cactoideae es en empalizada, similar al de una hoja dicotiledónea típica, con un volumen de aerénquima que facilita la difusión de gases; por debajo de éste se desarrolla el parénquima de reserva que presenta haces vasculares corticales, los cuales se asemejan a la venación de las hojas típicas por la función que tienen (Sajeva y Mauseth, 1991, 1992).

La parte más interna del tallo es la médula, que es también un parénquima de reserva (Boke, 1980; Mauseth, 1984a y b; Gibson y Nobel, 1986).

Las raíces, que en general son poco succulentas, están constituidas por una epidermis, desde donde crecen pelos radicales (en la zona de diferenciación); después está el córtex, con su capa más interna que es la endodermis, y a continuación el cilindro vascular, que contiene polos de xilema alternando con los de floema, rodeado por el periciclo (Gibson y Nobel, 1986; Mauseth, 1988).

A pesar de encontrar una constitución general semejante en todas las cactáceas, los grupos pueden diferir en las particularidades, inclusive entre los individuos de la misma especie, tal como se reporta para la anatomía del tallo de *Aporocactus flagelliformis* que varía en caracteres como: forma de las células epidérmicas, grosor de la cutícula, densidad de vasos, longitud de los elementos de vaso, longitud de las fibras xilemáticas, diámetro de la médula, entre otros (Olalde, 2000). Ésto probablemente sea un indicativo de que el desarrollo de los tejidos sea producto de la variabilidad de la información genética de la planta, pero además de la plasticidad de la misma en respuesta a las condiciones ambientales.

Anatomía de las plántulas de las cactáceas

Las adaptaciones xerofíticas que se observan en plantas adultas de las cactáceas se ven reflejadas en los estados juveniles como el de plántula, con una consecuente influencia en la estructura anatómica (Arber, 1910; De Fraine, 1910), y su forma difiere en correspondencia a los taxones a los que pertenecen.

Las plántulas de la Subfamilia Cactoideae presentan una mayor succulencia que las Opuntioideae. De Fraine (1910) describe a las tipo *Cereus* (Pachycereae) como plántulas con cotiledones e hipocótilo crasos. Los cotiledones usualmente distintos uno de otro en tamaño, constan de células parenquimatosas grandes y circulares, con espacios intercelulares extremadamente pequeños, atravesados por un haz vascular pequeño que se puede dividir para formar el haz vascular de la yema cotiledonaria. El hipocótilo es oval, pero rápidamente se transforma en circular (en sección transversal), las células son grandes y el parénquima prácticamente carece de espacios intercelulares. La raíz primaria es exarca y usualmente posee un desarrollo temprano del corcho en su región cortical más externa. En la clasificación de los tipos de plántulas según De Fraine (1910), las de *P. chichiipe* podrían considerarse del tipo *Cereus* porque ambas especies pertenecen a la Tribu Pachycereae.

Las plántulas del género *Echinocactus* son muy parecidas a las del tipo *Cereus* en lo que se refiere a hipocótilo y cotiledones. En este género, De Fraine (1910) además dice que los dos haces vasculares que provienen de la base del hipocótilo se bifurcan en el pasaje a través del córtex para formar primero cuatro haces vasculares: dos cotiledonares y dos que prosiguen el camino a las areolas del ápice. En este género la raíz puede ser diarca o tetarca.

En cactáceas, el tejido vascular del embrión madura muy rápidamente, y el protoxilema y el protofloema pueden distinguirse tan solo 24 horas después de la germinación. Los primeros elementos vasculares se encuentran en la zona de transición, aproximadamente en la parte media entre la punta del tallo y la punta de la raíz. La zona de transición es relativamente reducida (Freeman, 1969).

El más reciente de los trabajos de anatomía de plántulas es el realizado por Loza *et al* (2002) en *Stenocereus queretaroensis* donde describe que en el tallo, la epidermis es simple con estomas escasos y hay presencia de hipodermis; entre los 365 y los 425 días de edad hay siete haces vasculares en el epicótilo y dos en el hipocótilo, el cámbium vascular se diferencia durante ese tiempo, el xilema secundario presenta traqueidas de banda ancha y carece de fibras.

De la misma manera que en las cactáceas adultas, el estudio de la anatomía de las plántulas se ha tratado desde una perspectiva taxonómica (si bien los estudios

citados son antiguos), recientemente se han hecho trabajos que tratan de explicar la adquisición anatómica de la tolerancia a la sequía en plántulas. Al respecto, Malda *et al* (1999) encontraron que no hay correlación entre los porcentajes de sobrevivencia y el grosor de la cutícula de plántulas obtenidas *in vitro* y transplantadas a condiciones *ex vitro*. A su vez, Gutierrez *et al* (2001) observaron que en plántulas de varias cactáceas, la disponibilidad de agua afectó la densidad estomática y el grosor y número de estratos de la epidermis.

Adaptaciones anatómicas al estrés hídrico

Si presuponemos que la adaptación a la sequía es la tendencia principal en la evolución de las suculentas, entonces el objetivo de hacer eficiente el uso de agua adquiere prioridad sobre la optimización de la asimilación de carbono y flujos físicos de energía (Von Willert *et al*, 1992). En las cactáceas, la eliminación de hojas funcionales y desarrollo de tejidos externos altamente engrosados evita la pérdida de agua, pero consecuentemente se reduce la superficie fotosintética, y el crecimiento es lento (Boke, 1980).

Por ello las suculentas han desarrollado tejidos de almacenamiento de agua que las hacen capaces de soportar periodos prolongados de sequía (Von Willert *et al*, 1992). Los cuerpos esferoidales de las cactáceas están perfectamente diseñados para abastecer completamente las demandas de agua, con una gran capacidad de almacenamiento y economía de las pérdidas con una superficie transpiratoria reducida (Porembski *et al*, 1991).

La tolerancia a la sequía se caracteriza por: hojas pequeñas con tendencia a la orientación vertical, baja conductancia hidráulica del xilema, una capacidad relativamente alta de acumular solutos y mantener la elasticidad tisular alta expresada como mantenimiento de la turgencia (Smith *et al*, 1997).

Cuando la sequía es muy prolongada, los tallos pierden agua y las costillas son estrechas; pero si el suelo está húmedo, el tallo está hinchado y las costillas son amplias (Mauseth, 2000).

Colapsabilidad de la pared celular

Las respuestas más tempranas al estrés hídrico parecen estar mediadas por eventos biofísicos más que por cambios en reacciones químicas debidas a la deshidratación. Mientras el contenido de agua en la planta decrece, las células se encogen y las paredes celulares se relajan. La pérdida de agua progresa con la contracción de las membranas plasmáticas y la concentración de los solutos.

Entonces la membrana plasmática parece más gruesa debido a su compresión, y cubre una menor área que antes. La pared celular responde abatiendo el déficit de presión de turgencia mediante plegamientos. Estos cambios biofísicos en la elasticidad de la pared celular representan una importancia adicional durante la sequía porque mantienen la presión de turgencia, modificando el volumen celular (Taiz, y Zeiger, 1991; Smith *et al*, 1997; Lambers *et al*, 1998). Los ajustes osmóticos y cambios en la elasticidad de la pared celular han sido observados en todas las formas de vida desérticas (Smith *et al*, 1997), y en especial Mauseth (1995) lo ha reportado para cactáceas, dándole el nombre de colapsabilidad del tejido.

De acuerdo con Smith *et al* (1997) los ajustes de turgencia en suculentas desérticas pueden ocurrir a través de la producción de carbohidratos osmóticamente activos durante la sequía (incluyendo mucílagos fibrosos extracelulares), como lo han reportado Loza-Cornejo y Terrazas (1996), quienes observaron en *Wilcoxia* la presencia de células con abundante mucílago para evitar que la corteza se colapse en los periodos de deshidratación y recupere la turgencia rápidamente cuando el agua esté disponible. Sin embargo, en un estudio que abarcó un gran número de especies, se reportó que el tejido colapsable no difiere de otros en presencia o ausencia de almidón o cristales, y que la colapsabilidad del parénquima se debe a diferencias estructurales en la pared (Mauseth, 1995).

En cactáceas adultas, el parénquima colapsable se presenta en el córtex, por debajo del parénquima fotosintético y por fuera del cilindro vascular, no encontrándose en la médula, y nunca está en contacto con los haces vasculares (Mauseth, 1995). Cabe resaltar que esta especialización del parénquima comienza a diferenciarse desde el ápice, en regiones de menos de un año de edad (Mauseth, 1995; Loza-Cornejo y Terrazas, 1996), y la zona se forma aunque el tejido esté lo suficientemente turgente para crecer (Mauseth, 1995).

El efecto del estrés hídrico en las raíces

En temporadas de sequía el suelo puede alcanzar potenciales hídricos bajos, lo cual repercute en la raíz acelerando su diferenciación (Dubrovski *et al*, 2002); pero en situaciones en que dicho potencial es extremadamente bajo, las raíces empiezan a perder agua. Las plantas evitan esa pérdida continua de agua: plegando la superficie de las raíces de tal manera que quede el mínimo contacto con las partículas del suelo (Nobel, 1998); reduciendo la conductividad hidráulica xilemática asociada con la generación de lagunas corticales (causadas por el encogimiento y colapsamiento de los tejidos), incrementando la suberización (en la exodermis, endodermis y córtex adyacente) y aumentando los embolismos (North y Nobel, 1991).

Los embolismos son provocados por la cavitación, y se presentan en las raíces como una forma de mantener altos potenciales hídricos durante el tiempo de sequía. La cavitación ocurre en *O. ficus-indica* a altas presiones xilemáticas, limitando la toma de agua desde el suelo en las primeras semanas de sequía, y como consecuencia se reduce la pérdida de agua de los tallos suculentos al suelo seco (Linton y Nobel, 1999).

En *O. ficus-indica* el 45% de la capacidad conductiva de agua es soportada por los vasos grandes que constituyen tan solo el 10% del total, sin embargo no se debe dejar de lado la relación que existe entre el diámetro del vaso y la susceptibilidad a la cavitación (Linton y Nobel, 1999).

Además, se ha visto que la raíz no responde como un todo, sino que cada segmento es capaz de responder a las diferencias de disponibilidad de agua, no obstante su edad y grado de desarrollo (North y Nobel, 1998, 2000).

Por otra parte, el crecimiento determinado de la raíz ha sido interpretado como una decapitación fisiológica del ápice para promover la producción de señales de iniciación de primordios de raíces laterales. El desarrollo rápido del sistema de raíces, y la habilidad para detenerse y seguir creciendo por algún tiempo bajo condiciones desfavorables y favorables, sugiere la importancia del papel de crecimiento determinado en el establecimiento de plántulas de cactáceas (Dubrovski, 1997).

Relación superficie-volumen

Una de las características que confiere a la estructura crasa a las plantas es la reducción de la relación superficie-volumen. Esta variable adquiere importancia en ambientes desérticos porque se permite el almacenamiento de agua sin pérdidas excesivas por transpiración debido a que la superficie es proporcionalmente reducida. En cactáceas (excepto Pereskioideae) este hecho es muy marcado puesto que los tallos son suculentos, y no hay hojas laminares en etapas adultas (Porembski *et al*, 1991; Mauseth, 2000).

El problema es que no todas las cactáceas de tallos crasos tienen la misma forma, es decir, tienen distintos hábitos de vida (por ejemplo globoso o columnar) lo cual les confiere diferencias en sus relaciones superficie-volumen. En el caso de las columnares se ha visto que dicha relación se afecta considerablemente en tiempos prolongados de sequía por la pérdida de agua y el plegamiento de las costillas dado por la forma cilíndrica (Porembski *et al*, 1991). Por otra parte, la forma elemental de los cactus globosos (esferoidales) como *Echinocactus grusonii* es más favorable porque se alcanza el volumen máximo de almacenamiento de agua

combinado con una superficie muy reducida proporcionalmente, lo cual les permite ser menos susceptibles a la deshidratación y tener cambios en la proporción superficie volumen menos drásticos (Porembski *et al*, 1991).

Ahora bien, en plántulas la relación superficie-volumen es alta al momento de la germinación, pero a medida que se da el crecimiento de la plántula, ésta decrece considerablemente (Altesor *et al*, 1992). Cuando la planta es adulta, el área del tallo tiende a ser constante (Mauseth, 2000), por lo que los cambios en la proporción sólo serán afectados por las diferencias de volumen por el estado hídrico de la planta.

Morales *et al* (1998) proponen que un buen modelo geométrico para conocer las dimensiones de una plántula de cactácea es la elipsoide. Un cálculo más sencillo es el que propone Mauseth (2000) al considerar a los cactus como cilindros, con la ventaja de que matemáticamente el cálculo de la relación entre el perímetro y el área de una sección transversal del cacto, es idéntico al cálculo de la relación superficie-volumen.

Como ya se mencionó, los cambios en la relación superficie-volumen en plántulas está determinado principalmente por el crecimiento, pero como se ha visto en adultos, también está determinado por la cantidad de agua en la planta. El estado hídrico de la planta se refleja en la turgencia del cuerpo, y si son posibles los cambios en el volumen es porque hay tejidos que permiten el plegamiento.

OBJETIVO

- Observar y evaluar las modificaciones anatómicas como respuesta al estrés hídrico en brote y raíz de plántulas de distintas edades de *P. chichipe* y *E. platyacanthus*.

METODOLOGÍA

Material biológico

Se emplearon las mismas plántulas de las dos especies (*P. chichipe* y *E. platyacanthus*) en las tres diferentes edades (42, 70 y 98 días) y en los dos tratamientos de disponibilidad de agua ($\psi_{\text{control}} = -0.19$ MPa y $\psi_{\text{estrés}} = -1.519$ MPa) indicadas en el Capítulo III (páginas 38-39).

Estudio anatómico del brote y de la raíz

1. Las plántulas fueron fijadas en FAA (formol, ácido acético, alcohol; 2:1:10), por un periodo *mínimo* de 1 semana.
2. Se separó el brote de la raíz. La parte del brote se seccionó transversalmente a una distancia de 3-4 mm de la base. En la raíz se desecharon los primeros 1.5-2 mm desde la base (Figura IV-1).

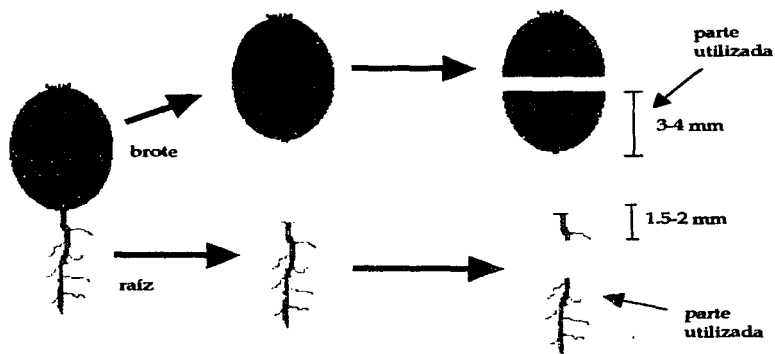


Figura IV-1. Metodología utilizada para seccionar las plántulas y preparación para microtecnia.

3. Se deshidrataron los tejidos sometiéndolos a alcoholes de distinta concentración:
 - 50% por 24 horas
 - 70% por 24 horas
 - 85% por 24 horas
 - 96% por 12 horas dos veces
 - 100% por 2 horas dos veces
5. Infiltración en parafina. El material se colocó en las siguientes mezclas:
 - Xilol / alcohol etílico 1:1 por 15-20 minutos
 - Xilol / Paraplast 1:1 a 56°C por 24 horas
 - Paraplast puro a 56°C por 5-10 días
6. Inclusión en parafina. El material se incluyó en moldes cúbicos pequeños de metal con Paraplast puro.
7. Obtención de cortes. Se obtuvieron cortes transversales de 8 a 14 μm de grosor en un microtomo de rotación manual. Una laminilla por cada plántula estudiada.

8. Tinción. Los cortes se tiñeron con la técnica de Safranina-verde rápido (metilcelosolve).
9. Se tomaron fotomicrografías digitales de los cortes mediante un microscopio compuesto (Olympus) y una cámara digital (Sony), con iluminaciones de campo claro, campo oscuro y contraste de fases, en aumentos de 3.12X, 10.25X, 25X y 50X.
10. Mediciones histológicas. Con el programa de cómputo Zeiss Image 3.0 se realizaron las siguientes mediciones sobre las fotomicrografías:

a) Tallo

- Perímetro transversal de la plántula
- Área transversal de la plántula
- Número de haces vasculares
- Número de vasos por haz vascular
- Área de cada vaso

b) Raíz

- Área transversal del córtex
- Área transversal del cilindro vascular

11. Con las mediciones estereoscópicas de las dimensiones de las plántulas (Capítulo III), se calculó la relación superficie-volumen.

$$\text{relación superficie-volumen} = \text{superficie} / \text{volumen} = (S/V)$$

12. Con las mediciones histológicas se obtuvieron los siguientes parámetros:

a) Brote.

- Total de vasos por plántula
- Área total de vasos por plántula
- Capacidad conductora teórica (CCT) de cada vaso según Díaz (1996), ver Apéndice III
- Capacidad conductora teórica (CCT) por plántula
- Relación perímetro transversal-área transversal de la plántula
= perímetro / área = (P/A)

Los vasos y el resultado de sus correspondientes variables se categorizaron por tamaño, como sigue:

- vasos chicos: de hasta $2 \mu\text{m}^2$ de área ($x / x > 0 : x = 2 \mu\text{m}^2$).
- vasos grandes: mayores de $2 \mu\text{m}^2$ de área ($x / x > 2 \mu\text{m}^2$).

13. El diseño experimental para cada especie fue de 2 tratamientos de disponibilidad de agua por 3 edades, para un total de 6 plántulas por repetición (*P. chichipe* n=6 y *E. platyacanthus* n=9); para algunos análisis se agregó el factor tamaño de vasos (chicos y grandes). Se realizaron análisis de varianza para cada variable, de tres (especie, tratamiento y edad) y cuatro vías (especie, tratamiento, edad y categoría de tamaño). Para determinar las diferencias significativas en particular se utilizó la prueba de Mínima Diferencia Significativa (LSD). Los datos se analizaron con el programa Statistica 98.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Morfología externa de las plántulas

En las plántulas de *P. chichipe* y *E. platyacanthus* (y en general las de Cactoideae) el brote es fácilmente distinguible de la raíz dada la suculencia del hipocótilo desde el momento de la germinación. En este momento las plántulas de ambas especies tienen forma acorazonada debido a los cotiledones.

Brote

Después de la germinación es posible ver plántulas con un epicótilo muy reducido, hipocótilo suculento y cotiledones reducidos.

En *P. chichipe* los cotiledones tienen forma triangular. En el ápice se comienzan a desarrollar las nuevas areolas con espinas. A medida que avanza el desarrollo el epicótilo (que contiene a las nuevas areolas) se elonga. El estrés hídrico provoca la pérdida de turgencia del brote, parece no obstaculizar la formación de nuevas areolas, detiene el crecimiento del epicótilo, y las areolas se concentran en un área muy reducida (Lámina 1). Ocasionalmente la baja disponibilidad de agua provoca que el tallo se vea amarillo.

Los cotiledones en *E. platyacanthus* son redondos. En la parte apical las areolas se desarrollan en tubérculos notorios, que van aumentando de tamaño conforme al desarrollo de la plántula. Las areolas tienen tricomas y espinas. Durante los primeros 98 días de edad el epicótilo no se elonga sustancialmente en buenas condiciones de disponibilidad de agua. En un estado de estrés hídrico el brote pierde turgencia, que es más marcada en el hipocótilo. Las areolas parecen desarrollarse en menor número o con menor cantidad de tricomas (Lámina 2). En ocasiones el estrés hídrico provoca el amarillamiento del tallo.

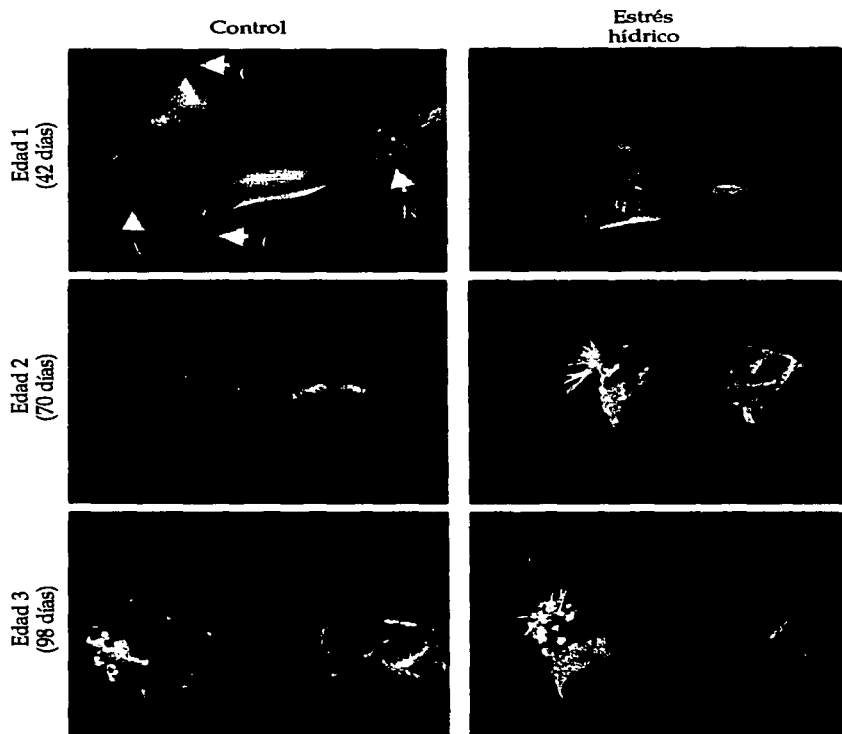


Lámina IV-1. Plántulas de *P. chichipe*. Cotiledones (C), areolas (A) y raíz (R). Al momento de la germinación la plántula tiene forma de corazón debido a los cotiledones; a medida que transcurre el crecimiento se desarrollan areolas con espinas en la parte apical, y se elonga el tallo. La deficiencia de agua tiene efecto en la morfología externa de las plántulas que se observa como pérdida de turgencia; las areolas se desarrollan al parecer en número similar a una plántula que está en buena disponibilidad de agua, pero éstas ocupan una superficie notablemente reducida. Aumento 2.5X, microscopía estereoscópica.

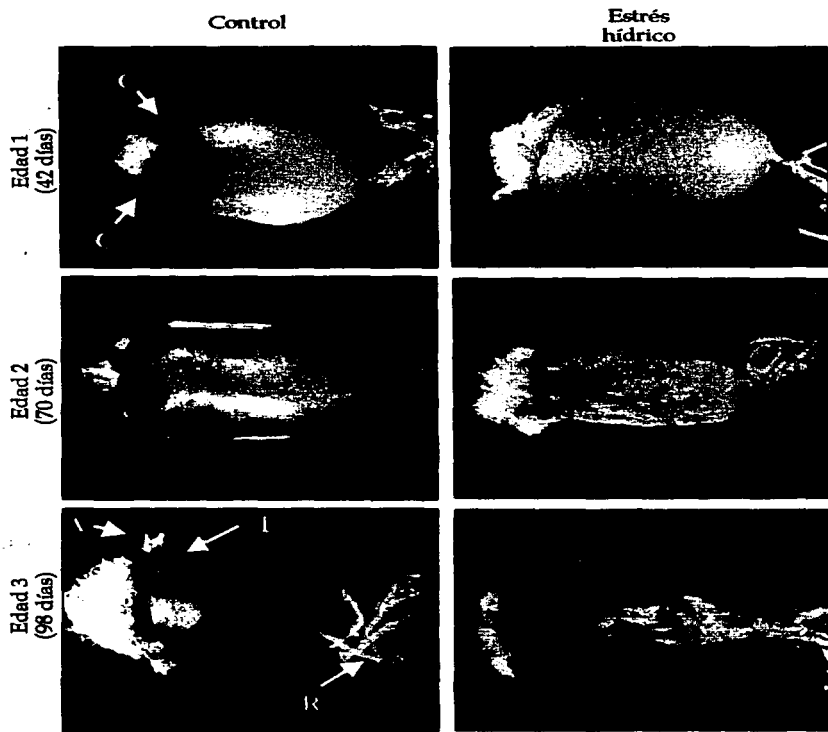


Lámina IV-2. Plántulas de *E. platyacanthus*. Tubérculos (T), areola (A), cotiledones (C) y raíz (R). Al igual que en *P. chichiye*, las plántulas de *E. platyacanthus* tienen forma acorazonada al momento de la germinación por los cotiledones. En la parte apical se desarrollan las areolas con lana abundante. Durante los primeros 98 días de edad una plántula que está en buenas condiciones de humedad elonga principalmente el hipocótilo, dejando las areolas apicales en una zona reducida. El efecto morfológico del estrés hídrico es la pérdida de turgencia del hipocótilo. Aumento 25X, microscopía estereoscópica.

El efecto estructural del estrés hídrico se hizo evidente a los 70 días (35 días de exposición al estrés), aunque no se descarta que los cambios comenzaran a ocurrir previamente (Láminas 1 y 2).

Raíz

En las raíces de *P. chichipe* en general no se observa raíz primaria persistente y las secundarias se forman desde momentos muy tempranos después de la germinación. En *E. platyacanthus* generalmente se desarrolla una raíz primaria persistente, y las raíces secundarias se comienzan a desarrollar muy cerca de la base. En ambos tipos de raíces y en ambas especies, es posible ver pelos radicales pocos días después de la germinación (Lámina 3:1-3). En ambas especies el estrés hídrico detiene el crecimiento del sistema radical, y en algunos casos lo daña severamente.

Anatomía de las plántulas

En los cortes exploratorios previos al experimento se vio que la zona de transición entre el tallo y la raíz es reducida.

Brote

La anatomía del brote en ambas especies es simple, con epidermis uniestratificada, córtex, dos o cuatro haces vasculares y una médula parenquimatosa (Láminas 4 y 5).

La zona meristemática se encuentra entre los cotiledones y presenta células pequeñas con citoplasma denso (Lámina 6:1-2). En plántulas de 5 días de edad es posible ver que esta zona ya comienza a desarrollar las primeras areolas.

En ocasiones las células de la epidermis no tienen forma regular sino forma sinuosa, fenómeno que se acentúa más en las plántulas en estrés hídrico, en las que también se presentan plegamientos como resultado de la pérdida de turgencia de la plántula y que en algunos casos son el inicio de los cordones de células colapsadas en el córtex (Lámina 6:3-5). Los estomas que se observaron están constituidos típicamente por células oclusivas, las acompañantes y la cámara subestomática. A diferencia de lo que sucede en plantas adultas, los observados estaban poco hundidos (Lámina 7:1-2). No se contó el número de estomas por área pero se pudo apreciar visualmente la abundancia de éstos por la formación de burbujas de aire al sumergir las plántulas en agua.

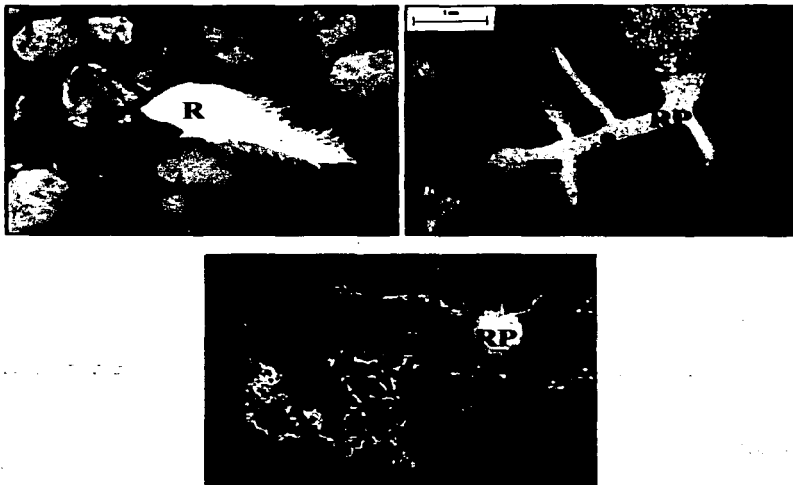


Lámina 3. 1-Semilla de *E. platyacanthus* en germinación con la radícula emergiendo. Radícula (R), cubierta seminal (CS), pelos radiculares (PR) y ápice de la radícula con cofia (CO). Aumento 6X.

2- Raíz de *E. platyacanthus* de 15 días de edad. Aumento 6X. Raíz primaria (RP) y raíz secundaria (RS), ambas con pelos radiculares (PR).

3- Sección longitudinal de raíz de *E. platyacanthus*. Raíz primaria (RP), raíz secundaria (RS), cilindro vascular (CV) y córtex (C). Aumento 12.5X, microscopía de campo oscuro.

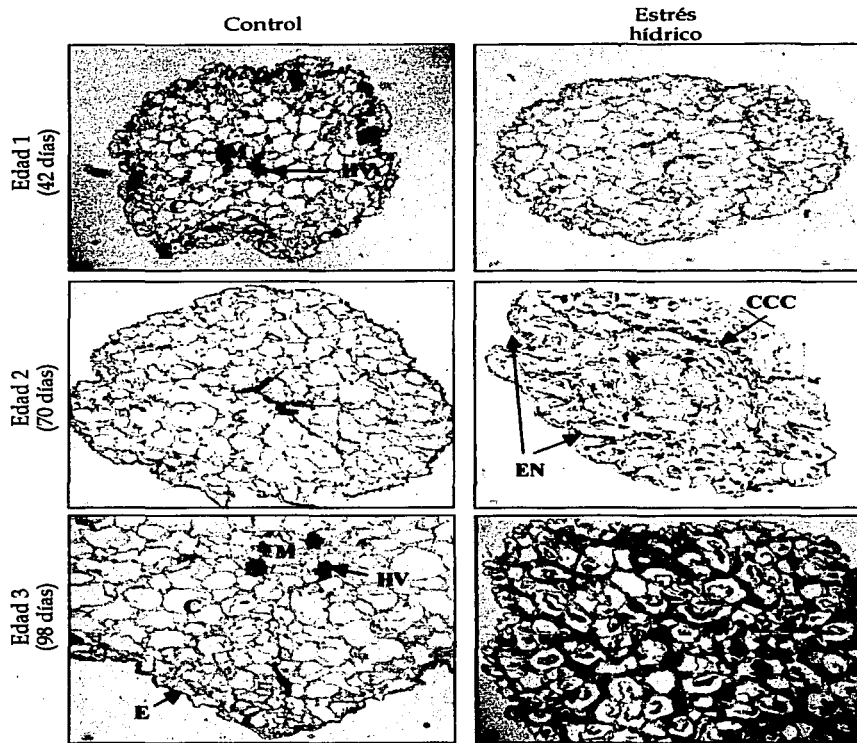


Lámina IV-4. Secciones transversales de plántulas de *P. chichipe*. Epidermis (E), córtex (C), haz vascular (HV) médula (M), célula plasmolisada (CP), cordón de células colapsadas (CCC) y entrantes. La pérdida de turgencia de las plántulas provoca que en los cortes se observen formas perimedulares irregulares con gran número de entrantes. En el Control se observa que las células de parénquima no tienen contenido citoplasmático, mientras que las del Estrés sí. Una célula turgente tiene una gran vacuola que empuja al citoplasma contra la membrana plasmática y a ésta contra la pared celular. En una célula plasmolisada la membrana plasmática se separa de la pared celular y la vacuola se contrae por la pérdida de agua. Aumento 3.12X, microscopía de campo claro.

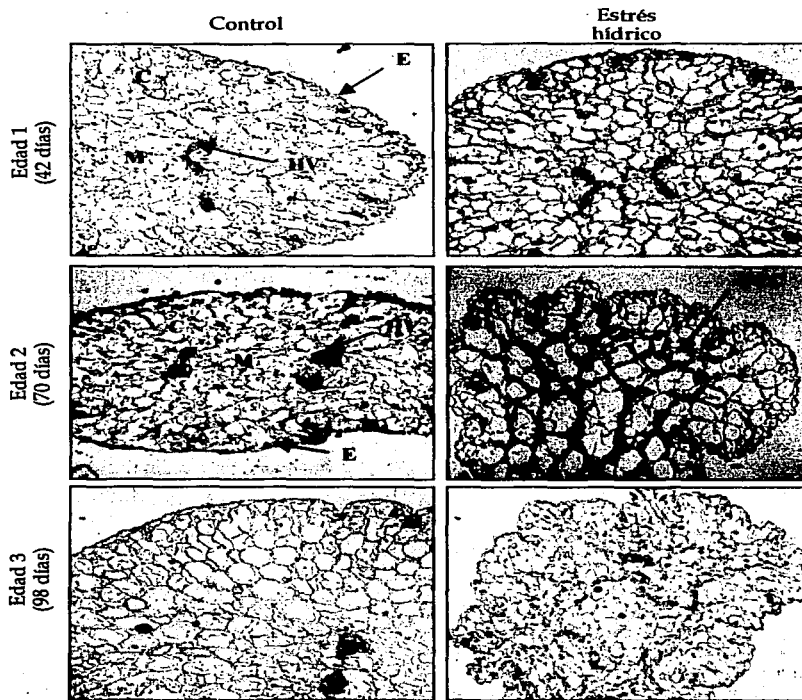


Lámina IV-5. Secciones transversales de plántulas de *E. platyacanthus*. Epidermis (E), córtex (C), haz vascular (HV) médula (M) y cordones de células colapsadas (CCC). Al igual de lo que sucede en *P. chichiye*, las células de las plántulas que están en estrés hídrico están plasmolisadas. Pero además la pérdida de turgencia de la plántula provoca que el tejido se colapse en algunas regiones debido a que las paredes celulares se pliegan, formándose cordones de células colapsadas que van desde los haces vasculares, hasta la epidermis. Aumento 3.12X, microscopía de campo claro.

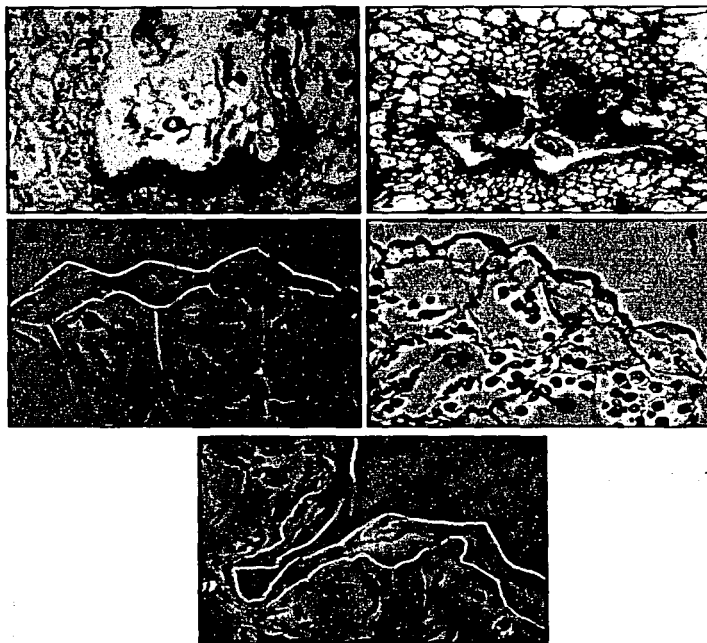


Lámina 6. 1-Sección longitudinal de tallo de *E. platyacanthus*. Zona meristémica apical entre los cotiledones (C), con primordios de tubérculos (PT) y tricomas (T) que forman la lana del ápice. Aumento 12.5X, microscopía de campo claro.

2-Sección transversal de tallo de *P. chichiye*. Zona meristémica con primordios de tubérculo (PT) y espinas hacia el centro (E). Aumento 25X, microscopía de campo claro.

3-5 Secciones transversales de tallo de *E. platyacanthus*. Aumento 25X, microscopía de contraste de fases.

3-Epidermis (E) con células de forma regular y células subepidérmicas semiplasmolisadas (CSP).

4-Epidermis (E) con células de forma irregular, células subepidérmicas plasmolisadas (CP) y organelos (O).

5-Plegamiento de la epidermis (PE), con inicio de cordones de células colapsadas (IC).

Las células de parénquima en general son grandes, con paredes celulares delgadas, el vacuoma ocupa casi todo el volumen celular y el citoplasma está muy reducido; los organelos se observan como cuentas porque están atrapados entre la membrana plasmática y el tonoplasto (Lámina 7:3). Cuando las células pierden turgencia el citoplasma se comienza a condensar y se pueden observar más claramente los organelos (Lámina 7:4); también pueden colapsarse y tener plegamientos en sus paredes (Lámina 7:5-6).

El parénquima del córtex no está diferenciado en fotosintético y acuífero. Al parecer durante los primeros 98 días de vida las plántulas de *P. chichipe* y *E. platyacanthus* aun no desarrollan especializaciones del córtex (Láminas 4 y 5), a diferencia de lo que se presenta en plantas adultas.

Con respecto a los haces vasculares (Láminas 8 y 9), cerca de la base del brote se presentan sólo dos haces vasculares que se van separando a medida que la altura y maduración de la plántula va incrementando. Cada haz vascular se bifurca y corren hacia los cotiledones y hacia las nuevas areolas. Los haces vasculares resultantes se bifurcan sucesivamente para empezar a formar una región vascular bien marcada. A una altura de 3 a 4 mm, *P. chichipe* generalmente presenta dos haces vasculares a la edad de 70 días y a los 98 días ya son cuatro. En *E. platyacanthus*, a esa misma altura ya se presentan generalmente cuatro haces vasculares desde los 42 días de edad (Láminas IV-8 y IV-9). Los vasos tienen ornamentación helicoidal.

Raíz

En ambas especies se distinguió en la raíz la epidermis con pelos radicales, en algunos casos la exodermis (no asociada a la disponibilidad de agua), el córtex, la endodermis y el cilindro vascular exarco (diarco o tetraarco) (Lámina 10:1-3). En la endodermis fue posible observar los engrosamientos radiales y tangenciales característicos de la banda de Caspary (Lámina 10:4).

Las raíces de *E. platyacanthus* fueron de mayor diámetro que las de *P. chichipe* desde los 42 días de edad (Láminas 11 y 12). En el cilindro vascular no siempre fue posible distinguir claramente a los vasos de las células de parénquima, debido a que la lignina no estaba lo suficientemente depositada en las paredes de los vasos para hacerse evidente en las tinciones o con las técnicas de microscopía empleadas.

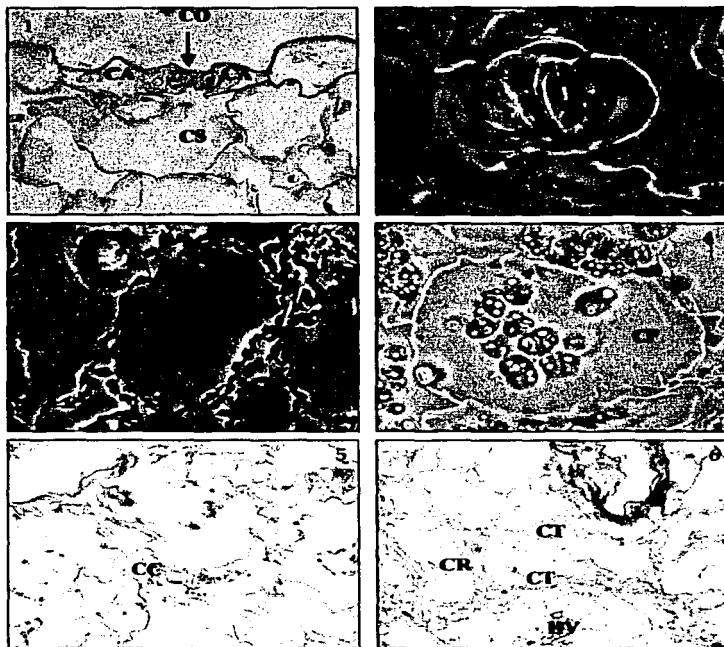


Lámina 7. 1-Sección transversal de tallo de *E. platyacanthus*. Estoma con poro (P), células oclusivas (CV), acompañantes (CA) y cámara subestomática (CS). Aumento 25X, microscopía de campo claro.

2-Sección paradermal de tallo de *E. platyacanthus*. Estoma con células oclusivas (CO) y acompañantes (CA). Aumento 50X, microscopía de contraste de fases.

3-Sección transversal de tallo de *E. platyacanthus*. Célula completamente turgente (CT) con el vacuoma ocupando casi todo el volumen celular y los organelos (O) empujados hacia la periferia. Aumento 25X, microscopía de contraste de fases.

4- Sección transversal de tallo de *E. platyacanthus*. Célula plasmolisada (CP) no colapsada con organelos (O) evidentes. Aumento 50X, microscopía de contraste de fases.

5-Sección transversal de tallo de *E. platyacanthus*. Células colapsadas (CC). Aumento 25X, microscopía de campo claro.

6-Sección transversal de tallo de *E. platyacanthus*. Zonas de parénquima colapsado en cordones que corren de manera radial (CR), transversal (CT) y alrededor del haz vascular (HV), y células no colapsadas junto a las colapsadas. Aumento 12.5X, microscopía de campo claro.

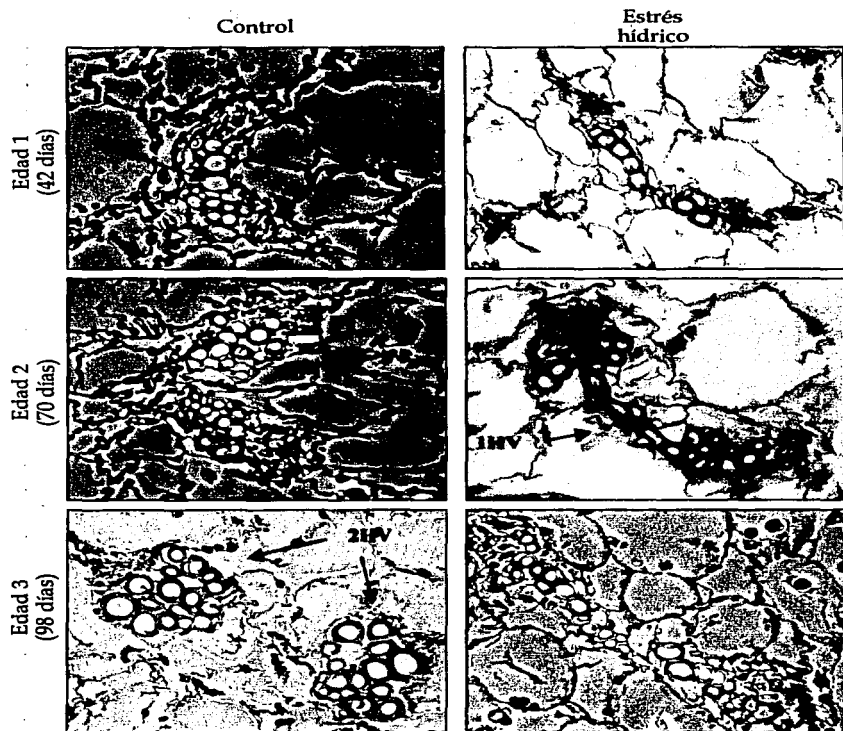


Lámina IV-8. Sección transversal de tallo de plántulas de *P. chichipe*. Uno (1HV) y dos (2HV) haces vasculares con xilema (X) y floema (F). En las fotomicrografías se muestra la mitad del total de vasos de las plántulas. En estas etapas, los dos haces vasculares se bifurcan para formar cuatro, separándose completamente como se observa en el Control de 98 días de edad. Microscopía de contraste de fases y de campo claro, aumento 25X.

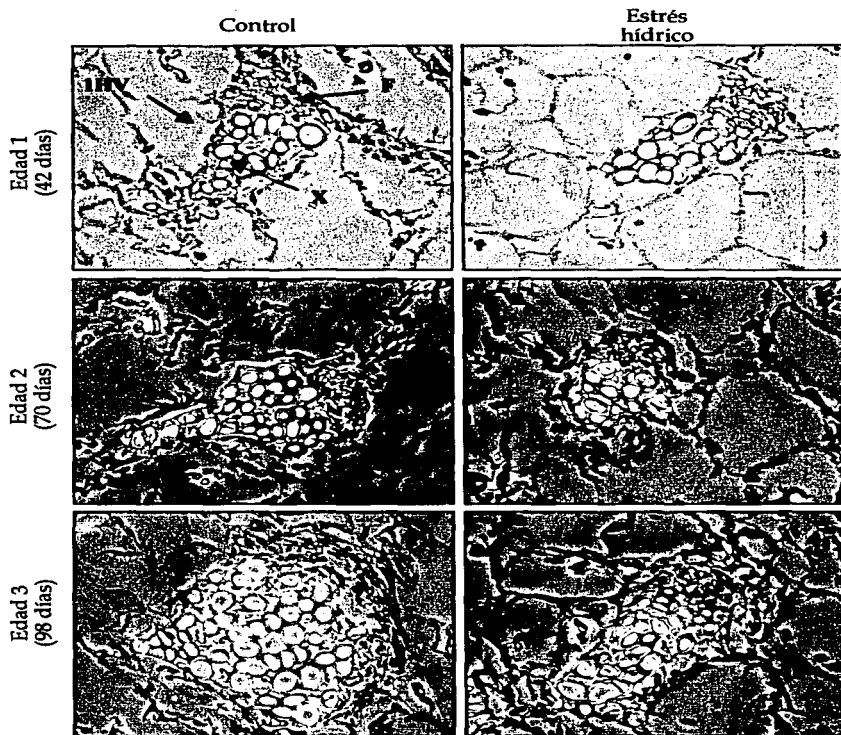


Lámina IV-9. Sección transversal de tallo de plántulas de *E. platyacanthus*. Un haz vascular (IHV) con xilema (X) y floema (F). En estas edades se distinguen generalmente cuatro haces vasculares; de los cuales uno es el que se muestra en las fotomicrografías. Microscopía de contraste de fases, aumento 25X.

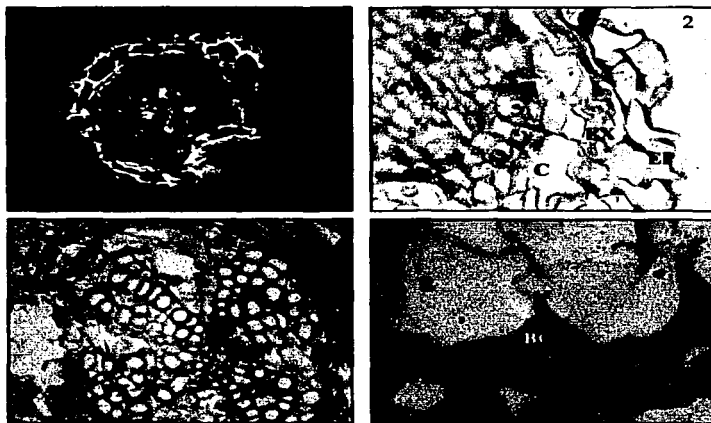


Lámina 10. 1- Sección transversal de raíz de *P. chichipe*. Conformación típica de una raíz dicotiledónea con epidermis (EP), córtex (C), endodermis (E), cilindro vascular (CV) y polos de xilema (PX). Aumento 25X, microscopía de campo oscuro.

2- Sección transversal de raíz de *E. platyacanthus*. Epidermis (EP), exodermis (EX), córtex (C), endodermis (E) y cilindro vascular (CV). Aumento 40X, microscopía de campo claro.

3- Sección transversal de raíz de *E. platyacanthus*. Cilindro vascular de una raíz típica de dicotiledónea con sus polos de xilema (PX). Aumento 50X, microscopía de campo claro.

4- Aumento del recuadro señalado en 1 donde se muestra la endodermis (E) con los engrosamientos radiales característicos de la banda de Caspary (BC) y por debajo de la endodermis el periciclo (P). Aumento 125X, microscopía de campo claro.

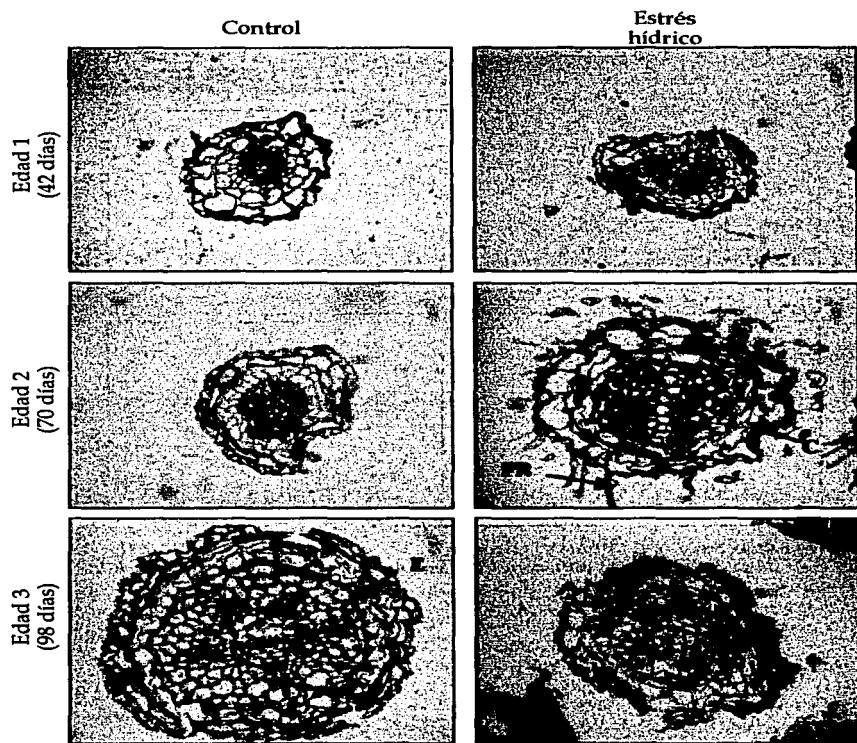


Lámina 11. Secciones transversales de raíces de *P. chichipe*. Endodermis (E), córtex y pelos radicales (PR). Aumento 125X, microscopía de campo claro.

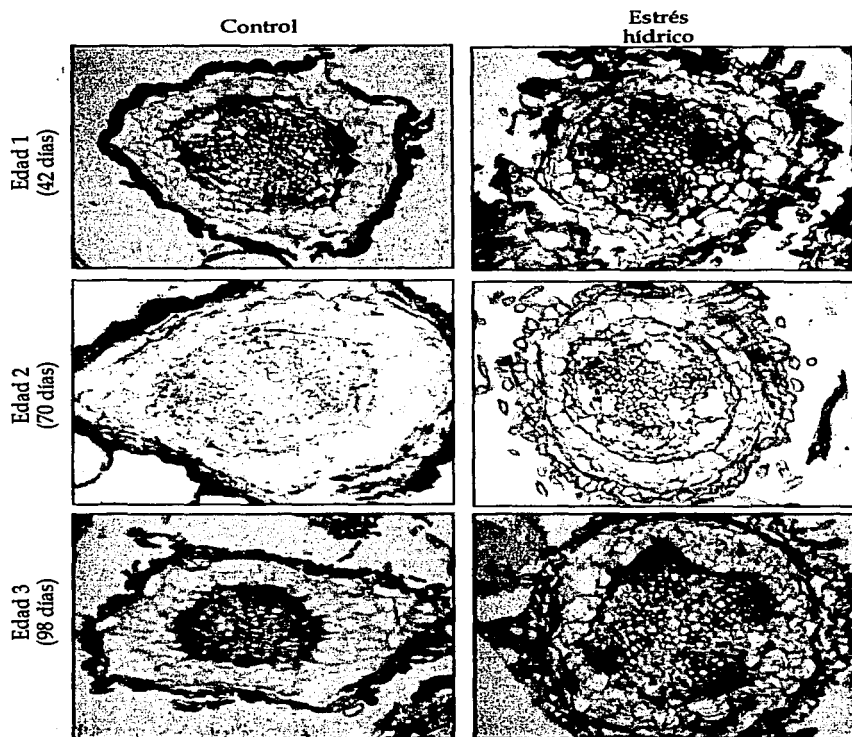


Lámina 12. Secciones transversales de las raíces de *E. platyacanthus*. Polos de xilema (PX), endodermis (E) y pelos radicales (PR). Aumento 12.5X, microscopía de campo claro.

Colapsabilidad de las paredes celulares

En el parénquima del córtex de las plántulas estudiadas se encontró que algunas células estaban plasmolisadas, pero además se observó el fenómeno de colapsabilidad de la pared celular reportado para cactáceas adultas por Mauseth (1995). No parece haber diferencias entre las células colapsadas y no colapsadas salvo porque las primeras presentaban plegamientos en la pared. Se sugiere que la colapsabilidad se debe a que en el parénquima existen algunas células con engrosamientos diferenciales de su pared, lo cual provoca que cuando la presión de turgencia decae, se plieguen junto con la plasmolisis de la membrana plasmática. El fenómeno de colapsabilidad reportado por Mauseth (1995) en cactáceas adultas presenta características especiales, por ejemplo, que la zona de colapsabilidad está por debajo del parénquima fotosintético y hasta antes de la zona vascular (nunca estando en contacto con ésta última). En plántulas el tejido colapsable efectivamente se encuentra en la zona cortical, y se presenta en ciertas regiones de forma radial y tangencial. En ocasiones se desarrollan cordones de células colapsadas que pueden circundar la zona vascular, o que se desarrollan desde la epidermis y llegan hasta el haz vascular. Dicho fenómeno es peculiar porque es posible observar células completamente turgentes y no colapsadas junto a los cordones de células colapsadas (Láminas 7:6).

Mauseth (1995) apunta que la zona colapsable se forma aunque el tejido esté turgente, pero en las plántulas estudiadas este hecho no pudo ser confirmado. Las observaciones indican que en ocasiones el tejido colapsable se desarrolla independientemente de la disponibilidad de agua de la planta, aunque siempre está en mayor proporción en las plántulas en estrés hídrico.

Superficie, volumen y relación superficie-volumen

En la superficie de las plántulas (Figura IV-2) no se encontraron diferencias significativas debidas al tratamiento ($F_{(1,78)} = 2.37$; $p = 0.1276$), lo que quiere decir que el estrés hídrico no afectó la superficie de las plántulas durante los primeros 98 días de vida. Pero si varió significativamente con la edad ($F_{(2,78)} = 5.24$; $p = 0.0073$) y la especie ($F_{(1,78)} = 6.14$; $p = 0.0153$).

En el caso del volumen (Figura IV-2), éste se vio afectado significativamente por la edad ($F_{(2,78)} = 3.28$; $p = 0.0425$) y el tratamiento ($F_{(1,78)} = 4.87$; $p = 0.0301$), pero no por la especie ($F_{(1,78)} = 1.04$; $p = 0.3097$). Lo anterior indica que en una situación de buena disponibilidad de agua las plántulas incrementan en volumen siguiendo un ritmo de crecimiento normal, pero si se encuentran en estrés hídrico el incremento

del volumen es menor debido a la pérdida de turgencia, independientemente de la especie de que se trate.

Ahora bien, en la relación superficie-volumen (Tabla IV-1 y Figura IV-2) solamente se encontraron diferencias significativas debidas a la edad ($F_{(2,78)} = 5.08$; $p = 0.0084$), pero no al tratamiento ($F_{(1,78)} = 3.8708$; $p = 0.0526$) ni a la especie ($F_{(1,78)} = 0.6368$; $p = 0.4272$). Según la prueba estadística, en el volumen de las plántulas existen diferencias significativas debidas al tratamiento, sin embargo este comportamiento no se refleja en la relación superficie-volumen, lo cual podría atribuirse a que el efecto del estrés se enmascara por los cambios debidos a la edad. El hecho de que no haya diferencias significativas debidas a la especie quiere decir que independientemente de ésta, la relación superficie-volumen es similar para plántulas de *P. chichipe* y *E. platyacanthus*, aun cuando al momento de la germinación éstas tengan tamaño distinto (Láminas 1 y 2).

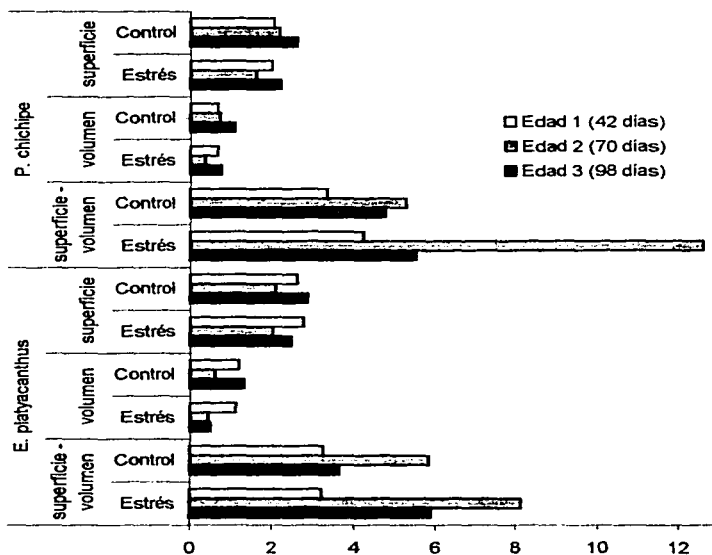


Figura IV-2. Superficie (cm²), volumen (cm³) y relación superficie-volumen de las plántulas de *P. chichipe* y *E. platyacanthus*. Se asume que la forma de las plántulas es cilíndrica

Tabla IV-1. Relación superficie-volumen (S/V) y perímetro-área (P/A) de las plántulas por especie, tratamiento y edad. Se presentan las medias con su respectiva desviación estándar. Letras distintas en cada apartado (S/V o P/A) indican diferencias significativas ($p < 0.05$) según la prueba de Mínima Diferencia Significativa (LSD).

	Especie	Tratamiento	Edad 1 (42 días)	Edad 2 (70 días)	Edad 3 (98 días)
S/V	<i>P. chichiipe</i>	Control	3.335 ± 0.96 a	5.302 ± 5.11 ab	4.765 ± 3.09 ab
		Estrés	4.230 ± 2.36 a	12.644 ± 15.21 c	5.536 ± 4.27 ab
	<i>E. platyacanthus</i>	Control	3.239 ± 2.15 a	5.842 ± 3.11 ab	3.647 ± 2.94 a
		Estrés	3.204 ± 1.29 a	8.145 ± 7.06 b	5.884 ± 2.66 ab
P/A	<i>P. chichiipe</i>	Control	9.3462 ± 2.76 abcd	9.4586 ± 2.29 bcd	7.3584 ± 2.94 ab
		Estrés	11.9273 ± 2.79 def	12.9697 ± 2.64 fg	10.5057 ± 3.98 cde
	<i>E. platyacanthus</i>	Control	7.0915 ± 3.11 a	8.6991 ± 5.41 abc	7.0421 ± 1.40 a
		Estrés	9.2578 ± 2.64 bc	12.3997 ± 2.86 ef	14.5125 ± 1.66 g

De acuerdo a la prueba de diferencias mínimas significativas (Tabla IV-1) en *P. chichipe* del tratamiento Control la relación se mantuvo relativamente constante, mientras que en el tratamiento Estrés se observó un incremento a los 70 días, lo cual implica que el volumen o la superficie de la plántula varió. En *E. platyacanthus* la relación superficie-volumen se mantuvo relativamente constante, pero tendió a incrementar con el tratamiento estrés (Figura IV-2).

Al parecer, el componente más importante de la relación superficie-volumen es precisamente el volumen, y los cambios debidos a la edad o a la disponibilidad de agua se verán reflejados de manera significativa en la relación superficie-volumen.

Perímetro, área transversal y relación perímetro-área

En el perímetro transversal no se encontraron diferencias significativas debidas al tratamiento ($F_{(1,69)} = 1.32$; $p = 0.2545$), sin embargo la edad ($F_{(2,69)} = 10.13$; $p = 0.0001$) y la especie ($F_{(1,69)} = 21.32$; $p < 0.0001$) si tuvieron un efecto significativo; de lo anterior se deduce que, independientemente de la disponibilidad de agua, existen cambios en el perímetro transversal como producto del proceso de crecimiento de las plántulas, cuya tasa depende de la especie (Figura IV-3).

En el área transversal (Figura IV-3) si se encontraron diferencias significativas debidas al tratamiento ($F_{(1,69)} = 22.13$; $p < 0.0001$), además de las debidas a la edad ($F_{(2,69)} = 7.24$; $p = 0.0013$) y la especie ($F_{(1,69)} = 9.33$; $p = 0.0031$).

Por lo anterior se puede decir que sí se registran cambios en la relación perímetro-área transversal debidos al tratamiento, éstos serán ocasionados por los cambios que induce el estrés en el área transversal.

La relación perímetro-área transversal (Figura IV-3) no fue significativamente diferente entre especies ($F_{(1,69)} = 0.35$; $p = 0.5536$), es decir, no importa que tan distintas sean las plántulas de las especies, al final la relación perímetro-área es muy similar y se puede comparar. El mismo resultado se obtuvo cuando la prueba se realizó con la variable relación superficie-volumen. Se sugiere que cualquiera que sea la especie que se estudie, las plántulas tendrán una proporción superficie-volumen o perímetro-área transversal relativamente constantes bajo las mismas condiciones ambientales. En contraparte, los valores obtenidos para ambas proporciones no son los mismos, a diferencia de lo señalado por Mauseth (1995) de que son matemáticamente idénticos. Es probable que el procesamiento del material y la forma en que se tomaron las mediciones (microtecnia, microscopía y asunción teórica de la forma de las plántulas) hayan influenciado el resultado.

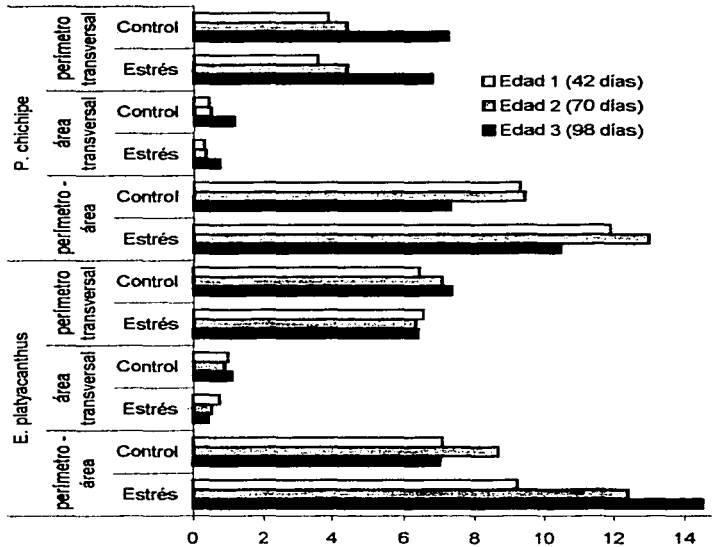


Figura IV-3. Área transversal (μm^2), perímetro transversal (μm) y relación perímetro-área de los cortes histológicos de las plántulas de *P. chichipe* y *E. platyacanthus*.

La relación perímetro-área evidenció más diferencias significativas debidas al tratamiento que la relación superficie-volumen (Tabla IV-1). Sin embargo ésta última podría ser más confiable debido a que está sujeta a menores errores experimentales.

El tratamiento afectó significativamente a la relación perímetro-área transversal ($F_{(1,69)} = 27.47$; $p < 0.0001$), incrementándola en el caso de baja disponibilidad de agua. No hubo cambios significativos debidos a la edad ($F_{(2,69)} = 1.45$; $p = 0.2394$), lo cual puede interpretarse como una relación perímetro-área relativamente constante durante los primeros 98 días de edad.

Según Altesor *et al* (1992), la relación superficie-volumen decrece a medida que aumenta la edad de la plántula, sin embargo en este trabajo se obtuvo un resultado contradictorio: durante los primeros 98 días de edad la proporción se incrementa, fenómeno que se acentúa por la baja disponibilidad de agua.

Número, área y capacidad conductora teórica (CCT) total de vasos

El desarrollo de vasos nuevos en el xilema es un fenómeno que estuvo relacionado directamente con la edad de las plántulas y varió significativamente con ésta ($F_{(2,69)} = 26.76$; $p < 0.0001$) (Tabla IV-2). Sin embargo, el estrés hídrico tuvo un efecto sobre esta variable ($F_{(1,69)} = 19.48$; $p < 0.0001$). Se vio que el déficit de agua retrasa la generación total de vasos en *P. chichipe*, aunque a los 98 días tienen prácticamente el mismo número que el de las plántulas en buena disponibilidad de agua. En *E. platyacanthus* el efecto es más drástico pues a los 98 días las plántulas que están en estrés hídrico tan sólo llegan a desarrollar la mitad de los vasos con respecto al Control. De ello también se deduce que hay diferencias de comportamiento entre las especies estudiadas, lo cual se ratifica con el análisis estadístico ($F_{(1,69)} = 8.67$; $p = 0.0043$); por lo tanto hay una diferencia de sensibilidad al estrés hídrico en la generación de vasos.

Como consecuencia de lo anterior también es posible ver un efecto en el área transversal de los vasos ($F_{(1,69)} = 19.48$; $p < 0.0001$), pero no en la CCT ($F_{(1,69)} = 2.54$; $p = 0.1150$), debido al estrés hídrico (Tabla IV-2). Se observa un fenómeno similar al del número de vasos, donde el estrés hídrico provocó una menor acumulación de área transversal de vasos en *P. chichipe*, pero con valores similares a los 98 días. En *E. platyacanthus* el área transversal de los vasos disminuye en esa misma edad a la mitad por efecto del estrés.

La CCT tiende a mantenerse similar en *P. chichipe* en ambos tratamientos, mientras que en *E. platyacanthus* solo se desarrolla a la mitad con respecto al control. La diferencia de comportamiento reflejó diferencias significativas debidas a la especie en acumulación de área transversal ($F_{(1,69)} = 8.67$; $p = 0.0043$) y en la CCT ($F_{(1,69)} = 8.95$; $p = 0.0038$).

Debe señalarse que el área transversal se incrementa significativamente con la edad ($F_{(2,69)} = 26.76$; $p < 0.0001$), mientras que la CCT no ($F_{(2,69)} = 0.17$; $p = 0.8393$).

Se observa entonces que *E. platyacanthus* es más sensible al estrés hídrico, mientras que *P. chichipe* tiene más habilidad para equilibrar el déficit hídrico y seguir el desarrollo normal de las plántulas.

Tabla IV-2. Número de vasos, área transversal (μm^2) y CCT (Capacidad Conductora Teórica) de los vasos ($1 \times 10^{-7} \mu\text{m}^3 \text{ s}^{-1}$), por especie, y edad. Se presentan las medias con su respectiva desviación estándar. Letras distintas en cada apartado indican diferencias significativas ($p < 0.05$) según la prueba de Mínima Diferencia Significativa (LSD).

	Especie	Tratamiento	Edad 1 (42 días)	Edad 2 (70 días)	Edad 3 (98 días)
número de vasos	<i>P. chichipe</i>	Control	38.000 ± 14.5 ab	64.400 ± 16.6 cde	84.400 ± 27.076 f
		Estrés	29.600 ± 11.4 a	37.333 ± 13.0 ab	81.000 ± 28.1 ef
	<i>E. platyacanthus</i>	Control	52.222 ± 14.5 bcd	89.142 ± 27.5 f	122.00 ± 39.6 g
		Estrés	50.250 ± 14.7 bc	46.750 ± 9.6 ab	66.750 ± 17.8 de
área transversal	<i>P. chichipe</i>	Control	38.418 ± 9.9 abc	45.109 ± 14.8 abcd	72.854 ± 29.9 de
		Estrés	35.690 ± 14.1 ab	32.116 ± 9.5 a	61.607 ± 17.5 bcde
	<i>E. platyacanthus</i>	Control	64.944 ± 29.6 cde	133.884 ± 66.2 f	145.721 ± 65.1 f
		Estrés	70.875 ± 32.9 de	59.227 ± 16.4 bcde	77.216 ± 14.8 e
capacidad conductora teórica (CCT)	<i>P. chichipe</i>	Control	1.49 ± 1.4 bcd	0.49 ± 0.2 a	1.40 ± 0.7 abc
		Estrés	1.20 ± 0.6 abc	0.77 ± 0.4 ab	1.18 ± 0.5 abc
	<i>E. platyacanthus</i>	Control	1.54 ± 1.3 bcd	2.82 ± 2.0 e	2.30 ± 1.1 de
		Estrés	1.69 ± 0.9 cd	1.41 ± 0.7 bc	1.35 ± 0.7 bc

Número, área y capacidad conductora teórica (CCT) de vasos por categoría de tamaño

El crecimiento que se da con la edad se tradujo en incrementos significativos en el número ($F_{(1,138)} = 26.44$; $p < 0.0001$) y área transversal de los vasos ($F_{(1,138)} = 9.38$; $p = 0.0001$) por categoría de tamaño. En los vasos grandes los valores de ambas variables se mantuvieron significativamente constantes desde los 42 días y hasta los 98 días de edad (Tabla IV-3).

Hubo diferencias significativas debidas al tratamiento en el número ($F_{(1,138)} = 19.22$; $p < 0.0001$) y área transversal ($F_{(1,138)} = 15.18$; $p = 0.0001$) de vasos chicos y grandes, lo cual quiere decir que dependiendo del estado hídrico de la planta se pueden generar diferentes tamaños de vasos.

Al igual que en el número y área total de vasos, en *P. chichiye* las diferencias tanto en chicos como en grandes debidas al estrés se eliminaron hacia los 98 días de edad de tal manera que los valores fueron similares; en *E. platyacanthus* el estrés disminuyó significativamente el número y área transversal de vasos chicos. Además, cuando las plántulas de *E. platyacanthus* se encontraron en buenas condiciones de humedad tuvieron la posibilidad de desarrollar vasos muy grandes ocasionalmente, lo cual es evidente por las altas desviaciones estándar que se presentan en estas variables desde los 70 días de edad (Tabla IV-3).

En ambas variables, número y área transversal de vasos por tamaño se registraron diferencias significativas obvias debido al tamaño de éstos.

Ahora bien, en la CCT por tipo de vaso (Tabla IV-3) no hubo diferencias significativas debidas a la edad ($F_{(1,138)} = 0.20$; $p = 0.8124$), lo cual quiere decir que aunque se generen vasos nuevos, no tienen un aporte significativo a la capacidad conductora, pero tampoco el estrés hídrico tuvo efecto sobre la CCT ($F_{(1,138)} = 3.00$; $p = 0.0850$). Sin embargo la CCT fue menor con el estrés y estuvo influenciada por la baja CCT de los vasos grandes.

Por otra parte, se encontró que la CCT es prácticamente la misma en vasos chicos y en vasos grandes ($F_{(1,138)} = 1.55$; $p = 0.2142$) (Tabla IV-3). Esto indica que existe una relación entre el número y área transversal de los vasos, de manera tal que se mantiene una CCT similar en la combinación numerosos vasos pequeños/área transversal pequeña o pocos vasos grandes/área transversal grande. Lo anterior indica la tendencia de las plántulas a conservar una capacidad de conducción en valores tales que permitan el mantenimiento de los flujos de agua.

Como lo señalan Linton y Nobel (1999), los vasos grandes son más susceptibles a la cavitación, sin embargo son éstos los que contribuyen significativamente a la

capacidad conductora. Los resultados obtenidos podrían interpretarse como una previsión a una posible cavitación cuando se presente la sequía puesto que, en un tallo que es suculento y el agua es abundante, no sería conveniente que se detuviera el transporte del agua. Quizá la cavitación pueda ser más importante en las raíces porque el flujo de agua hacia ésta puede provocar flujos importantes de pérdida de agua.

También se registraron diferencias significativas debidas a la especie en número ($F_{(1,138)} = 8.52$; $p = 0.0040$), área transversal ($F_{(1,138)} = 39.97$; $p < 0.0001$) y CCT ($F_{(1,138)} = 10.57$; $p = 0.0014$) de vasos por categoría de tamaño, lo cual evidencia las distintas estrategias que siguen *P. chichiye* y *E. platyacanthus* como respuesta al estrés hídrico.

Como ya se ha expuesto, la CCT parece ser importante en las respuestas ante el estrés hídrico. Sin embargo, la forma en que se calculó la conductividad hidráulica (CCT) en este trabajo, con base al diámetro de los vasos (Díaz, 1996), puede ser de 3 a 10 veces mayor respecto a la que se mide directamente con base al flujo de agua (Nobel com pers, 2002). Una investigación del tópico midiendo la capacidad de conducción de manera experimental robustecería la información obtenida en este trabajo.

Tabla IV-3. Número de vasos, área transversal de vasos (μm^2) y capacidad conductora teórica (CCT) de los vasos ($1 \times 10^{-7} \mu\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) por categoría de tamaño (chicos de 0 a $2 \mu\text{m}^2$ y grandes mayores de $2 \mu\text{m}^2$), especie, tratamiento y edad. Se presentan las medias con su respectiva desviación estándar. Letras distintas en cada apartado indican diferencias significativas ($p < 0.05$) según la prueba de Mínima Diferencia Significativa (LSD).

	Especie	Tamaño de vasos	Tratamiento	Edad 1 (42 días)	Edad 2 (70 días)	Edad 3 (98 días)
número de vasos	<i>P. chichipe</i>	chicos	Control	36.00 ± 15.9 (de)	62.80 ± 15.8 (f)	81.20 ± 27.1 (g)
			Estrés	25.60 ± 9.6 (cd)	36.00 ± 13.9 (de)	78.66 ± 29.1 (g)
		grandes	Control	2.00 ± 2.3 (a)	1.60 ± 3.4 (a)	3.20 ± 2.9 (a)
			Estrés	4.00 ± 3.0 (a)	1.33 ± 1.6 (a)	2.33 ± 2.2 (a)
	<i>E. platyacanthus</i>	chicos	Control	44.22 ± 10.7 (e)	69.71 ± 29.6 (fg)	110.22 ± 30.2 (h)
			Estrés	42.25 ± 9.0 (e)	42.00 ± 12.6 (e)	60.00 ± 18.7 (f)
		grandes	Control	8.00 ± 10.1 (a)	19.42 ± 19.3 (bc)	11.33 ± 13.9 (ab)
			Estrés	8.0 ± 7.4 (a)	4.75 ± 5.2 (a)	6.75 ± 5.7 (a)
área transversal de vasos	<i>P. chichipe</i>	chicos	Control	35.32 ± 6.9 (cd)	43.78 ± 13.2 (cde)	69.52 ± 28.56 (f)
			Estrés	30.71 ± 11.4 (bc)	30.59 ± 9.8 (c)	59.35 ± 17.2 (ef)
		grandes	Control	3.10 ± 4.3 (a)	1.32 ± 2.7 (a)	3.33 ± 3.6 (a)
			Estrés	4.98 ± 3.9 (a)	1.52 ± 1.9 (a)	2.25 ± 2.4 (a)
	<i>E. platyacanthus</i>	chicos	Control	52.56 ± 15.1 (e)	97.03 ± 38.1 (g)	130.20 ± 47.5 (h)
			Estrés	58.53 ± 20.0 (ef)	51.69 ± 13.5 (de)	68.44 ± 13.6 (f)
		grandes	Control	12.38 ± 17.0 (a)	36.86 ± 43.1 (cd)	14.94 ± 20.8 (ab)
			Estrés	12.34 ± 13.9 (a)	7.53 ± 9.4 (a)	8.78 ± 7.6 (a)

Tabla IV-3. Continuación....

	Especie	Tamaño de vasos	Tratamiento	Edad 1 (42 días)	Edad 2 (70 días)	Edad 3 (98 días)
capacidad conductora teórica de los vasos (CCT)	<i>P. chichipe</i>	chicos	Control	0.672 ± 0.2 (abcd)	0.419 ± 0.1 (abc)	0.987 ± 0.4 (cde)
			Estrés	0.555 ± 0.2 (abcd)	0.537 ± 0.2 (abcd)	0.929 ± 0.3 (cd)
		grandes	Control	0.820 ± 1.4 (bcd)	0.074 ± 0.1 (a)	0.413 ± 0.3 (abc)
			Estrés	0.642 ± 0.5 (abcd)	0.241 ± 0.4 (ab)	0.252 ± 0.3 (ab)
	<i>E. platyacanthus</i>	chicos	Control	0.707 ± 0.2 (bcd)	1.07 ± 0.4 (de)	1.50 ± 0.4 (ef)
			Estrés	0.799 ± 0.3 (cd)	0.747 ± 0.4 (bcd)	0.774 ± 0.1 (cd)
		grandes	Control	0.830 ± 1.1 (cd)	1.75 ± 1.8 (f)	0.797 ± 0.7 (cd)
			Estrés	0.893 ± 0.7 (cd)	0.663 ± 0.7 (bcd)	0.573 ± 0.6 (abcd)

Relación área transversal de cilindro vascular-córtex en la raíz

Se ha reportado que el estrés hídrico tiene un efecto directo sobre la conductividad hidráulica, lo cual está asociado con la formación de lagunas corticales por el colapsamiento y encogimiento de tejidos (North y Nobel, 1991). Dado que no fue posible estandarizar la metodología para el estudio de la raíz (en el sentido de que no se pudo determinar claramente si la raíz que se empleó era primaria o secundaria, además de que no se consideró el total del sistema radical), se decidió hacer una comparación de la proporción del área transversal de cilindro vascular con respecto al área del córtex, para determinar en que medida el estrés hídrico afecta la proporción de tejidos de la raíz, considerando que un mayor estado hídrico favorece el desarrollo de una mayor área del córtex.

No se encontraron diferencias significativas debidas a la edad ($F_{(2,65)} = 0.85$; $p < 0.4303$), tratamiento ($F_{(1,65)} = 0.0234$; $p < 0.8788$), ni especie ($F_{(1,65)} = 3.93$; $p = 0.0515$) (Tabla IV-4). Esto significa que se mantuvo una misma proporcionalidad en ambas zonas, menos esta variable, es afectada poco por el estrés.

Adquisición de la tolerancia a la sequía

En un trabajo de Gutiérrez *et al* (2001) ya se sugiere que en la anatomía de las plántulas de cactáceas se desarrollan modificaciones de tolerancia a la sequía como la densidad estomática, grosor y número de capas de la epidermis, etc. Por otra parte Loza *et al* (2002) señalan que la presencia de traqueidas de banda ancha en el xilema y escasa presencia de estomas se interpretan como adaptaciones para evitar la desecación. Según los resultados obtenidos en este trabajo, se propone que otras variables anatómicas como las relaciones superficie-volumen y perímetro-área, y el número, tamaño y capacidad de conducción teórica de los vasos son importantes también en el desarrollo de tolerancia a la sequía.

Tabla IV-4. Porcentaje de área transversal del cilindro vascular de la raíz de las plántulas por especie, tratamiento y edad. Se presentan las medias con su respectiva desviación estándar. Letras distintas en todas las columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) según la prueba de Mínima Diferencia Significativa (LSD).

Especie	Tratamiento	Edad 1 (42 días)	Edad 2 (70 días)	Edad 3 (98 días)
<i>P. chichipe</i>	Control	26.1940 ± 5.39 abc	28.7509 ± 10.86 abc	27.2833 ± 11.94 abc
	Estrés	25.0914 ± 10.79 ab	22.5042 ± 8.59 a	33.7294 ± 9.63 c
<i>E. platyacanthus</i>	Control	28.9151 ± 12.96 abc	33.4278 ± 5.96 c	32.3432 ± 10.41 bc
	Estrés	30.4292 ± 7.18 abc	40.0226 ± 10.37 d	25.3720 ± 11.36 ab

CONCLUSIONES

A los 98 días de edad no hay diferenciación aún entre el parénquima fotosintético y acuífero en el córtex del brote.

El fenómeno de colapsabilidad de las paredes celulares (no descrito antes para plántulas de cactáceas) tiene características un tanto diferentes al que se presenta en plantas adultas respecto a su distribución en el córtex del brote. Se sugiere que la colapsabilidad del parénquima en el brote puede ser una característica de desarrollo de tolerancia a la sequía.

Tanto la relación superficie-volumen como la relación perímetro-área transversal tendieron a ser constantes durante los primeros 98 días de edad de las plántulas e incrementaron en condiciones de estrés hídrico.

La relación superficie-volumen de la plántula, la relación perímetro-área de secciones transversales y el número y tamaño de vasos son variables que parecen ser importantes en la adquisición de la tolerancia al estrés hídrico.

Las plántulas de *E. platyacanthus* son más sensibles a la baja disponibilidad de agua que *P. chichipe*.

Los vasos chicos (de hasta $2\mu\text{m}^2$) se encontraron en mucho menor proporción que los grandes (mayores de $2\mu\text{m}^2$), sin embargo ambos tipos tuvieron una capacidad de conducción teórica (CCT) similar.

REFERENCIAS

- Altesor, A., E. Ezcurra, y C. Silva. 1992. Changes in the photosynthetic metabolism during the early ontogeny of four cactus species. *Acta Oecologica*, 13(6):777-785
- Arber, A. 1910. The cactaceae, and the study of seedlings. *New Phytology*, 9:333-337
- Boke, N. 1980. Developmental morphology and anatomy in Cactaceae. *Bioscience*, 30(4):605-610
- De Fraine, E. 1910. The seedling structure of certain Cactaceae. *Annals of Botany*, 24:125-175
- Díaz, L. 1996. *Capacidad de conducción en el xilema radical de Zea maiz L. a diferentes niveles*. Tesis: Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM, México.

- Dubrovski, J. 1997. Determinate primary-root growth in seedlings of Sonoran Desert Cactaceae; its organization, cellular basis, and ecological significance. *Planta*, 203:85-92
- Dubrovski, J., Rodríguez, S. Chichkova, S. Napsucialy y L. Gómez. 2002. Desarrollo temprano del sistema radicular en cactáceas desérticas: los meristemos son esenciales para sobrevivir. En: *Libro de resúmenes del III Congreso Mexicano y II Latinoamericano y del Caribe sobre cactáceas y otras plantas suculentas*, septiembre del 2002, Tamaulipas, México.
- Freeman, T. 1969. The developmental anatomy of *Opuntia basilaris*. I. Embryo, root, and transition zone. *American Journal of Botany*, 56(9):1067-1074
- Gibson, C. y S. Nobel. 1986. *The Cactus Primer*. Harvard University Press, Cambridge, Nueva York.
- Gutiérrez, M., A. Flores y E. Ezcurra. 2001. Desarrollo de la tolerancia a la sequía en cactáceas. En: *Resúmenes del XV Congreso Mexicano de Botánica*, del 14 al 19 de octubre, Jurica, Querétaro.
- Herrera, R. 1999. *Anatomía comparada del tallo y de la raíz de las especies del género Neovansia Marshall (Cactaceae)*. Tesis: Licenciatura, ENEP Iztacala, UNAM, México.
- Lambers, H., F. S. Stuart C. y T. Pons. 1998. *Plant Physiological Ecology*. Springer, Nueva York.
- Linton, M. y P. Nobel. 1999. Loss of water transport capacity due to xylem cavitation in roots of two CAM succulents. *American Journal of Botany*, 86(1):1538-1543
- Loza-Cornejo, S. y T. Terrazas. 1996. Anatomía del tallo y de la raíz de dos especies de *Wilcoxia* Britton & Rose (Cactaceae) del noreste de México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 59:13-23
- Loza, S., T. Terrazas, L. López y C. Trejo. 2002. Características morfo-anatómicas y del metabolismo fotosintético de plántulas de *Stenocereus queretaroensis*. En: *Libro de resúmenes del III Congreso Mexicano y II Latinoamericano y del Caribe sobre cactáceas y otras plantas suculentas*, septiembre del 2002, Tamaulipas, México.
- Malda, G., H. Suzán., y R. Backhaus. 1999. *In vitro* culture as a potential method for the conservation of endangered plants possessing crassulacean acid metabolism. *Scientia Horticulturae*, 81:71-87
- Mauseth, J. 1984a. Introduction to cactus anatomy. Part. 8. Inner body. *Cactus & Succulent Journal (U.S.)*, 56:131-135
- Mauseth, J. 1984b. Introduction to cactus anatomy. Part. 9. Primary and secondary growth. *Cactus & Succulent Journal (U.S.)*, 56:181-184
- Mauseth, J. 1988. *Plant anatomy*. Benjamin-Cummings, California.
- Mauseth, J. 1995. Collapsible water-storage cells in cacti. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 122(2):145-151
- Mauseth, J. 2000. Theoretical aspects of surface-to-volume ratios and water-storage capacities of succulent shoots. *American Journal of Botany*, 87(7):1107-1115

- Morales J, M Gil y R Osorio. 1999. Modelo matemático para evaluar el crecimiento de cactáceas globosas. *Libro de Resúmenes del 2º Congreso Mexicano y 1º Congreso Latinoamericano y del Caribe de Cactáceas y Otras Suculentas*, del 26 al 30 de octubre de 1999 en Oaxaca, México.
- Nobel, P. 1998. *Los incomparables Agaves y Cactus*. Trillas, México.
- Nobel, P. y De la Barrera. 2000. Carbon and water balances for young fruits of platyopuntias. *Physiologia plantarum*, 109:160-166
- North, G. y P. Nobel. 1991. Changes in the hydraulic conductivity and anatomy caused by drying and rewetting roots of *Agave deserti* (Agavaceae). *American Journal of Botany*, 78:906-915
- North, G. y P. Nobel. 1998. Water uptake and structural plasticity along roots of a desert succulent during prolonged drought. *Plant, Cell and Environment*, 21:705-713
- North, G. y P. Nobel. 2000. Heterogeneity in water availability alters cellular development and hydraulic conductivity along roots of a desert succulent. *Annals of Botany*, 85:247-255
- Olalde, G. 2000. *Estudio anatómico del tallo en Aporocactus flagelliformis (Linne) Lemaire (Cactaceae-Hylocereeae)*. Tesis Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM. 75 pp
- Porembski, S., B. Martens-Aly y W. Barthlott. 1991. Surface / volume-ratios of plants with special consideration of succulents. *Beitrage zur Biologie der Pflanzen*, 66, 189-209
- Sajeva, M. y J. Mauseth. 1991. Leaf-like structure in the photosynthetic, succulent stems of cacti. *Annals of Botany*, 68:405-411
- Sajeva, M. y J. Mauseth. 1992. Cortical bundles in the persistent, photosynthetic stems of cacti. *Annals of Botany*, 70:317-324
- Smith, S. D., R. K. Monson, J. E. Anderson. 1997. *Physiological ecology of North American Desert Plants*. Springer, Berlín.
- Taiz, L. y E. Zeiger. 1991. *Plant Physiology*. Benjamin Cummings, California.
- Von Willert, D., B. Eller., M. Werner., E. Brinckmann. y H. Ihlenfeldt. 1992. *Life strategies of succulents in deserts*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Wang, N., H. Zhang y P. Nobel. 1997. Phloem-xilem water flow in developing cladodes of *Opuntia ficus-indica* during sink-to-source transition. *Journal of Experimental Botany*, 48(308):675-682

CAPÍTULO V Discusión general

"En mayo arrecian los calores,
pero ya amenaza con llover: ¡Qué bueno!"
Paraisos-Rolando Rosas

Las adaptaciones anatómicas en las plántulas de las cactáceas están profundamente ligadas a los hábitos de vida de los adultos (Arber, 1910; De Fraine, 1910), es decir, si son arborescentes, arbustivos, columnares, globosos, etc. A su vez, Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes (2000) han propuesto que los requerimientos de luz en la germinación están asociados a los hábitos de vida y que probablemente tengan implicaciones filogenéticas.

La sobrevivencia como factor crucial del establecimiento se ha estudiado con el mismo enfoque, y se ha visto que las especies columnares son más sensibles a las altas temperaturas mientras que las especies globosas lo son a las bajas temperaturas (Nobel, 1980; Rojas-Aréchiga *et al*, 1998).

En plantas adultas otros autores señalan patrones fisiológicos y de distribución dependiendo del hábito de vida. Mourelle y Ezcurra (1997) mencionan que los cambios de especies columnares a través de un transecto son debidos a la variación de temperatura (confirmando la sensibilidad a la temperatura de esta forma de vida), que en especies opuntioideas se deben principalmente a razones topográficas, y que en el caso de las globosas se debe a la variación en la temperatura y el patrón de lluvias. Nobel (1980) menciona que en los cactus columnares la tasa fotosintética a veces está limitada por la radiación fotosintéticamente activa que recibe el tallo, además de estar correlacionada con la altura de la vegetación circundante y negativamente con la radiación fotosintéticamente activa que llega al suelo.

Dadas las evidencias encontradas, es posible pensar que las respuestas que se obtuvieron en *P. chichipe* y *E. platyacanthus* sean parte de estrategias de tolerancia que están asociadas a la forma de vida de las plantas adultas (columnar-arborescente y globosa respectivamente). Habría que conocer si estos comportamientos se presentan en otras especies con los mismos hábitos de vida.

Variación genética

Como ya se señaló en el Capítulo I, la respuesta al estrés en una población de plantas puede presentar un abanico de posibilidades dependiendo de la información genética de las plantas. Probablemente entre más amplia sea su

variabilidad, las plantas tendrán una diversidad de respuestas más marcada, mientras que en una población que tenga poca diversidad genética, será un comportamiento contrario, es decir, su comportamiento ante el estrés será homogéneo.

En un estudio de Cerritos *et al* (1999) se encontró que la variación genética de *E. platyacanthus* en el Valle de Zapotitlán está representada por unos cuantos individuos de algunas poblaciones; de la misma forma, la variabilidad genética de los individuos de *P. chichipe* de la población donde se colectaron las semillas (ver Capítulo I) se puede representar tan solo con 15 individuos (Cruz-González *com pers*, 2002). No obstante la baja variabilidad genética en ambas especies, se encontró que hay gran variación de respuesta de las plántulas al estrés hídrico (desviaciones estándar altas) en variables fisiológicas y anatómicas. Probablemente el desarrollo de tolerancia a la sequía se deba no solo a factores genéticos sino a otros niveles de regulación interna. Por ejemplo, Zavala *et al* (1999), reportaron que cuando las plantas de *Pachycereus hollianus* han sufrido un daño severo y se autoreparan somáticamente, generan plántulas en las siguientes reproducciones sexuales que tienen una sobrevivencia más alta.

La anatomía fisiológica de las plántulas

Con el objeto de establecer la relación entre los procesos metabólicos y anatómicos como respuesta al estrés hídrico, cuyos resultados se concentran en la Tabla V-1, se realizaron correlaciones entre casi todas las variables abordadas en el estudio. Se obtuvo la matriz de correlación presentada en la Tabla V-2.

De las correlaciones encontradas se dio mayor importancia a las que presentaron un coeficiente alto ($r^2 \geq 0.5$) y que tuvieran implicaciones morfofisiológicas de consideración.

En *P. chichipe* se observó que:

- El intercambio de agua es proporcional a la superficie de las plántulas.
- La tasa de intercambio de agua es proporcional al volumen de la plántulas. Sin embargo, al hacer una conversión de los datos de tasa de intercambio de agua, se encontró que se ajustan mejor a una correlación logarítmica (Figura V-1). Por lo tanto esto se interpreta como una tendencia a incrementar el intercambio de agua a medida que el volumen aumenta, pero llega un momento en que por más que aumente el volumen, el intercambio de agua ya no se modifica considerablemente y tiende a ser asintótica.

Tabla V-1. Resumen de las diferencias significativas (+) debidas al tratamiento y a la edad en ambas especies.

	<i>P. chichipe</i>		<i>E. platyacanthus</i>	
	Tratamiento	Edad	Tratamiento	Edad
Tasa de intercambio de CO ₂	-	+	-	-
Tasa de intercambio de CO ₂ (unidad plántula)	-	+	-	-
Tasa de intercambio de agua	-	-	-	+
Superficie de las plántulas	+	+	-	+
Volumen de las plántulas	-	-	+	+
Razón Superficie / Volumen	-	+	+	+
Área transversal de las plántulas	-	+	-	-
Perímetro transversal de las plántulas	+	+	+	-
Razón Área / Perímetro transversal	+	+	+	+
Número de vasos por planta	+	+	+	+
Área total de vasos por planta	+	+	+	+
CCT total por planta	-	+	+	-
Número de vasos por categoría de tamaño	+	+	+	+
Área total de vasos por categoría de tamaño	+	+	+	+
CCT por categoría de tamaño	-	+	+	-
Porcentaje de área transversal cilindro vascular en la raíz	-	-	-	+

Tabla V-2. Correlaciones lineales entre algunas de las variables. Se marcan en color las que son significativas ($p < 0.05$). y en rojo las que tienen coeficiente de correlación alto ($r^2 \geq 0.5$).

T=tratamiento, E=edad, S=superficie de la plántula, V=volumen de la plántula, S / V=relación superficie-Volumen, CO_2 =tasa de intercambio de CO_2 , Tra=tasa de intercambio de agua, N-H=número de haces vasculares, V-H=número de vasos por haz vascular, V-P=vasos por plántula, A-V= área transversal de vasos, CCT=capacidad conductora teórica de la plántula, P=perímetro de una sección transversal de la plántula, A=área de una sección transversal de la plántula, P / A=relación perímetro-área de una sección transversal de las plántulas, C=porcentaje de área de cilindro vascular de una sección transversal de las raíces de las plántulas

<i>Echinocactus platyacanthus</i>																	
XC	P/A	A	P	CCT	A-V	V-P	V-H	N-H	Tra	CO_2	S / V	V	S	E	T		
0.06	0.63	-0.66	-0.15	-0.37	-0.45	-0.46	-0.42	-0.06	-0.14	-0.10	0.26	-0.37	-0.14	0.06		T	
0.07	0.25	-0.07	0.19	0.04	0.35	0.54	0.36	0.34	-0.02	-0.05	0.09	-0.02	0.09		0.02	E	
-0.23	-0.35	0.34	-0.04	0.01	0.09	0.20	0.21	0.06	0.74	-0.01	-0.76	0.87		0.52	-0.21	S	
-0.28	-0.47	0.43	-0.05	0.06	0.14	0.23	0.25	0.05	0.55	0.01	-0.67		0.96	0.43	-0.22	V	
0.28	0.49	-0.46	-0.14	-0.09	-0.15	-0.18	-0.08	-0.21	-0.87	-0.04		-0.64	-0.69	-0.09	0.09	S / V	
0.02	0.02	0.00	0.10	-0.08	-0.06	-0.02	-0.07	0.10	0.08		0.19	0.08	0.01	0.01	-0.05	CO_2	
-0.20	-0.29	0.30	0.15	0.02	0.09	0.13	0.02	0.23		-0.14	-0.89	0.66	0.75	0.22	0.05	Tra	
-0.09	0.00	0.16	0.22	-0.16	0.28	0.32	-0.31		-0.14	0.06	0.01	0.13	0.10	0.32	-0.42	N-H	
0.10	-0.22	0.45	0.26	0.64	0.67	0.77		-0.19	0.52	0.02	-0.34	0.69	0.76	0.60	0.06	V-H	
0.00	-0.22	0.56	0.41	0.57	0.90		0.80	0.39	0.41	0.05	-0.31	0.72	0.77	0.71	-0.18	V-P	
0.04	-0.23	0.59	0.41	0.81		0.87	0.71	0.22	0.50	-0.06	-0.38	0.60	0.71	0.57	-0.15	A-V	
0.07	-0.23	0.45	0.26		0.46	0.07	0.25	-0.36	0.28	-0.22	-0.18	0.06	0.14	-0.05	-0.05	CCT	
-0.20	0.24	0.37		0.11	0.68	0.72	0.65	0.24	0.54	-0.08	-0.44	0.62	0.71	0.83	-0.06	P	
-0.07	-0.75		0.70	0.22	0.72	0.76	0.77	0.14	0.55	-0.06	-0.38	0.75	0.78	0.63	-0.20	A	
0.04		-0.72	-0.20	-0.26	-0.47	-0.42	-0.36	-0.20	-0.27	0.09	0.24	-0.44	-0.44	-0.21	0.41	P/A	
	-0.45	0.34	0.18	-0.15	0.12	0.24	0.21	0.17	0.15	0.09	-0.17	0.29	0.27	0.20	-0.14	XC	

Polaskia chichipe

- Como consecuencia de lo anterior, hay una correlación proporcional negativa entre la relación superficie-volumen de las plántulas y la tasa de intercambio de agua, es decir, a medida que aumenta dicha razón, disminuye la tasa de intercambio de agua.
- El volumen y la superficie están correlacionados proporcionalmente con la cantidad de vasos de la plántula y también con el área transversal de los vasos.
- Lo que resalta por las implicaciones en la fisiología de las plantas es que el área de los vasos de las plántulas es proporcional a la tasa de intercambio de agua; ésto cobra importancia porque el agua que se transporta hacia la superficie transpiratoria tiene que ser conducida por los haces vasculares. Cabe resaltar que durante los primeros 98 días de edad *P. chichipe* no desarrolla gran cantidad de vasos grandes, y los que se desarrollan son los chicos, y que el estrés hídrico no provoca cambios significativos en la cantidad final de vasos. Aunque la CCT fue similar en los vasos grandes y chicos, la mayor formación de vasos chicos posibilita una mayor velocidad de flujo. Esto se refleja en la baja proporcionalidad entre capacidad de conducción teórica ($r^2_{CCT}=0.28$) y el área transversal de los vasos.
- Se encontraron correlaciones del perímetro y el área transversal con el área vascular y el número de vasos por plántula.
- Hubo correlación del 92% entre la superficie y el volumen, mientras que para el perímetro y el área transversal fue del 70%. Esta diferencia entre valores, que en teoría deberían ser muy similares, podría atribuirse a las variaciones en sus proporcionalidades.

En *E. platyacanthus* se obtuvo que:

- La tasa de intercambio de agua es proporcional a la superficie de las plántulas.
- La tasa de intercambio de agua es proporcional al volumen de las plántulas. Pero como se muestra en la Figura V-1, la relación se ajusta mejor a una proporción logarítmica. Este comportamiento se interpreta de manera similar a la correlación homóloga en *P. chichipe*.
- Como se esperaba, la relación superficie-volumen también tiene una proporción negativa con la tasa de intercambio de agua. Lo cual puede indicar que cuando una planta está en una condición de buena hidratación, los tejidos están turgentes y la razón superficie-volumen es baja, la transpiración puede ser máxima; pero si la planta está en estado hídrico muy bajo y la razón superficie-volumen es alta, el intercambio de agua decrece considerablemente.

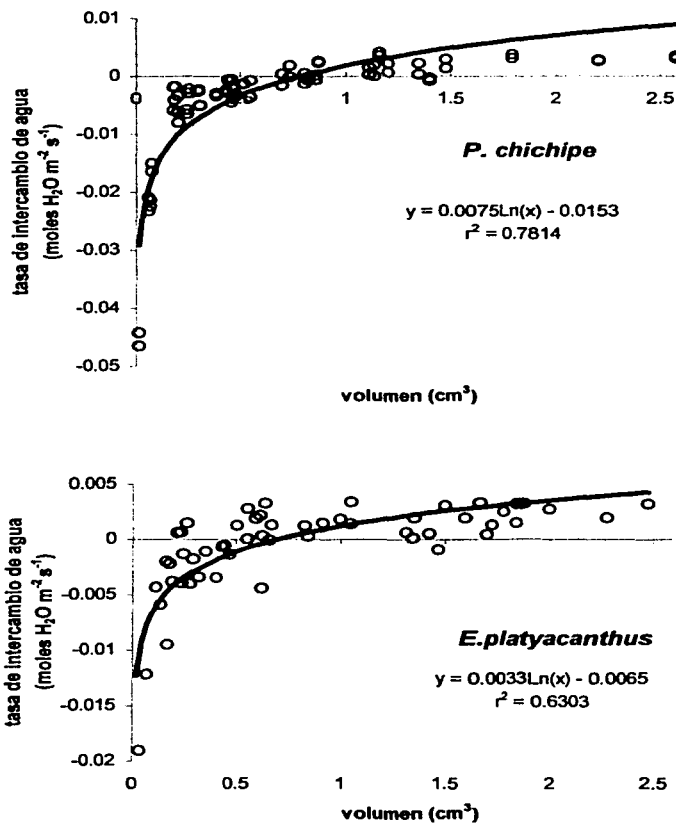


Figura V-1. Correlación logarítmica significativa ($p < 0.05$) entre volumen y tasa de intercambio de agua tanto en *P. chichipe*, como en *E. platyacanthus*.

- Se registraron correlaciones de la capacidad conductora teórica con el número y el área transversal de vasos.
- De la misma forma que en *P. chichipe*, la proporcionalidad entre superficie y volumen (0.87) fue distinta de la que presentó el perímetro y área transversal (0.37).

En el estado de plántula, los cambios en las tasas metabólicas debidos al estrés hídrico son casi imperceptibles. Pero cuando éstos se presentan, pueden desencadenar una mayor tolerancia al déficit hídrico.

En ninguna de las especies hubo una marcada respuesta al estrés hídrico en las tasas metabólicas, a excepción de la tasa transpiratoria por plántula en *P. chichipe*; probablemente este ajuste influye para que la anatomía no se afecte drásticamente cuando las plántulas se encuentran en estrés hídrico. Lo anterior podría entonces resultar en que la relación razón superficie-volumen de las plántulas no cambia cuando hay estrés y se puede conservar más el agua. En *E. platyacanthus*, el estrés hídrico provocó que el volumen de las plántulas decreciera y la relación superficie-volumen fuera afectada significativamente por el estrés.

Al parecer una de las estrategias que le facilitan a *P. chichipe* ser más tolerante a los cambios en la relación superficie-volumen es el desarrollo de modificaciones en el número, área y tamaño de vasos. Dichas características le permitieron a las plántulas en estrés hídrico mantener la CCT similar a las de las plántulas con buena disponibilidad de agua y que no se afectaran en este sentido por el déficit hídrico. Mientras que en *E. platyacanthus* estas modificaciones condujeron a la disminución del 50% en la CCT de las plántulas en Estrés con respecto a las del Control. Esa pérdida en la CCT pudo ocasionar que el agua necesaria para mantener los tejidos turgentes no fuera transportada, y que al no modificarse el proceso transpiratorio, las plántulas perdieran agua y volumen.

El hecho de que el tratamiento de estrés hídrico no haya afectado la tasa transpiratoria en *E. platyacanthus* es probablemente la causa de que las plántulas de esta especie pierdan volumen cuando están expuestas a estrés hídrico, dado que la baja disponibilidad de agua no activa mecanismos estomáticos para evitar la pérdida de agua excesiva, lo cual se ve reflejado en la pérdida de turgencia de la plántula. En *P. chichipe* la tasa transpiratoria tampoco se afecta por la disponibilidad de agua en el sustrato, no obstante la relación superficie-volumen se mantiene significativamente similar entre tratamientos.

CONCLUSIONES

En las plántulas estudiadas de hasta 98 días de edad no se encontró una relación directa en respuesta al estrés hídrico entre las modificaciones anatómicas y las fisiológicas.

Parece existir una relación entre las modificaciones en las tasas metabólicas y los cambios anatómicos por el estrés hídrico.

El control de la pérdida de agua y el mantenimiento del transporte a través del xilema pueden ser adaptaciones importantes en la tolerancia al estrés hídrico en plántulas de cactáceas.

Las plántulas de *P. chichipe* son más tolerantes al estrés hídrico que las de *E. platyacanthus*.

En ambas especies el estrés hídrico afectó en menor medida a las variables fisiológicas que a las anatómicas.

Existió una correlación entre la tasa transpiratoria y el volumen de las plántulas en ambas especies, independientemente del tratamiento.

REFERENCIAS

- Arber, A. 1910. The cactaceae, and the study of seedlings. *New Phytology*, 9:333-337
- Cerritos, R., C. Jiménez-Sierra y L. Eguiarte. 1999. Variación genética de *Echinocactus platyacanthus* (Cactaceae) en el Valle de Tehuacan, Puebla. En: *Libro de Resúmenes del 2° Congreso Mexicano y 1° Congreso Latinoamericano y del Caribe de Cactáceas y Otras Suculentas*, del 26 al 30 de octubre de 1999 en Oaxaca, México.
- De Fraine, E. 1910. The seedling structure of certain Cactaceae. *Annals of Botany*, 24:125-175
- Mourelle, C. y E. Ezcurra. 1997. Differentiation diversity of Argentine cacti and its relationship to environmental factors. *Journal of Vegetation Science*, 8:547-558
- Nobel, P. 1980. Interception of photosynthetically active radiation by cacti of different morphology. *Oecologia*, 45:160-166
- Rojas-Aréchiga, M. y C. Vázquez-Yanes. 2000. Cactus seed germination: a review. *Journal of Arid Environments*, 44:85-104

- Rojas-Aréchiga, M., C. Vázquez-Yanes y A. Orozco-Segovia. 1998. Seed response to temperature of Mexican cacti species from two life forms: an ecophysiological interpretation. *Plant Ecology*, 135:207-214
- Zavala, J. M. Rojas-Aréchiga y A. Díaz. 1999. Implicaciones ecológicas de la reparación somática en la cactácea columnar *Pachycereus hollianus*. Reproducción y establecimiento. En: *Libro de Resúmenes del 2° Congreso Mexicano y 1° Congreso Latinoamericano y del Caribe de Cactáceas y Otras Suculentas*, del 26 al 30 de octubre de 1999 en Oaxaca, México.

104

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias y a la Universidad Nacional Autónoma de México.

A la Dra. Margarita Collazo Ortega por todo el apoyo y dedicación para dirigir esta tesis.

A la Dra. Ana Laura López Escamilla y la M. en C. Laura Patricia Olguín por sus asesorías en cultivos *in vitro*.

A la Bióloga Lluvia Flores Rentería por su ayuda en la revisión, corrección, impresión y motivaciones para la realización de esta tesis.

A la M. en C. Georgina López Ríos y al Mtro. Rolando Rosas por las asesorías y revisiones de edición, contenido, estilo y redacción del documento.

A los sinodales de esta Tesis Dra. Margarita Collazo Ortega, Dra. Judith Márquez Guzmán, Dra. Alma Orozco Segovia, Dra. Ana Laura López Escamilla y M. en C. Mariana Rojas Aréchiga por sus observaciones y recomendaciones sobre esta tesis.

A la Dra. Sonia Vázquez Santana por las fotografías de microscopio electrónico.

Al Laboratorio de Desarrollo en Plantas, en especial a los Biólogos Lluvia Flores Rentería, Florencia García Campusano, Gregorio Orozco Arroyo, Edith Zárate, Karina Jiménez Durán y el M. en C. Ricardo Wong, por su ayuda, amistad y compañía.

A la Dra. Cecilia Soto por las facilidades y asesoría para el uso del microsmómetro del Laboratorio de Ecofisiología de la Facultad de Ciencias.

Al Dr. Park Nobel por sus valiosos comentarios sobre la metodología y los resultados de este trabajo.

A la Fundación TELMEX y a PROBETEL (UNAM) por las becas otorgadas durante la realización de la tesis.

5

106

APÉNDICE I

Formulación de los medios de cultivo

Medio MS (Murashige y Skoog, 1962)

	MSC g L ⁻¹	MS 50% g L ⁻¹
Macronutrientes		
NH ₄ NO ₃	1.65	0.825
KNO ₃	1.90	0.95
MgSO ₄ * 7H ₂ O	0.37	0.185
KH ₂ PO ₄	0.017	0.085
CaCl ₂ * 2H ₂ O	0.44	0.22
Micronutrientes		
KI	0.00083	0.000415
H ₃ BO ₃	0.0062	0.0031
MnSO ₄ * H ₂ O	0.0169	0.00845
ZnSO ₄ * 7H ₂ O	0.0086	0.0043
Na ₂ MoO ₄ * 2H ₂ O	0.00025	0.000125
CuSO ₄ * 5H ₂ O	0.000025	0.0000125
CoCl ₂ * 6H ₂ O	0.000025	0.0000125
Solución de Hierro-EDTA		
NaEDTA	0.0373	0.01865
FeSO ₄ * 7H ₂ O	0.0278	0.0139
Vitaminas		
Ácido nicotínico	0.0005	0.00025
Piridoxina-HCl	0.0005	0.00025
Tiamina-HCl	0.0001	0.00005
Aminoácidos		
Inositol	0.10	0.05
Glicina	0.002	0.001
Sacarosa	30	15

APÉNDICE II

Algunos datos sobre los frutos de *P. chichipe* y *E. platyacanthus*

Con el fin de contribuir al conocimiento general de las especies estudiadas, se realizaron las mediciones de peso fresco, diámetro y longitud de los frutos de *Polaskia chichipe* (n=20) y *Echinocactus platyacanthus* (n=30), cuyos resultados se presentan en la siguiente tabla:

Algunos datos sobre los frutos. Medias y desviaciones estándar.				
	<i>P. chichipe</i>	DE ±	<i>E. platyacanthus</i>	DE ±
peso fresco (g)	6.79	1.14	3.61	1.78
diámetro (mm)	19.96	2.99	14.09	3.49
longitud (mm)	19.86	4.21	35.72	7.31

APÉNDICE III

Fórmulas de los cálculos

TASAS METABÓLICAS (Pearcy *et al.*, 1991)

Tasa de intercambio de CO₂

$$An = \frac{U_e C_e - U_o C_o}{L}$$

donde An = tasa de intercambio de CO₂ por unidad de área = $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
 U_e = flujo de aire que entra a la cámara
 C_e = concentración de CO₂ en el aire que entra a la cámara
 U_o = flujo de aire que sale de la cámara
 C_o = flujo de CO₂ que sale de la cámara
 L = área superficial de la plántula

$$AnPl = An \cdot L$$

$AnPl$ = tasa de intercambio de CO₂ por plántula = $\mu\text{mol CO}_2 \text{ plántula}^{-1} \text{ s}^{-1}$

Tasa transpiratoria

$$E = \frac{U_o W_o - U_e W_e}{L}$$

donde E = tasa transpiratoria por unidad de área = $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
 W_e = fracción molar del vapor de agua en el aire que entra a la cámara
 W_o = fracción molar del vapor de agua en el aire que sale de la cámara
 U_e = flujo molar total que entra a la cámara
 U_o = flujo molar total que sale de la cámara

$$EPl = E \cdot L$$

EPl = tasa transpiratoria por plántula = $\text{mol plántula}^{-2} \text{ s}^{-1}$

CAPACIDAD CONDUCTORA TEÓRICA (CCT) (Díaz, 1996)

$$CCT = \frac{\pi w d^4}{128M}$$

donde w = peso específico del agua = 1000 kg m^{-3}

d = diámetro de vaso

M = velocidad absoluta o dinámica del agua = $0.0010 \text{ kg s m}^{-2}$

$$d = 2\sqrt{\frac{A}{\pi}}$$

donde A = área del vaso