



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Caracterización fenotípica de las raíces de
plántulas de *Mammillaria haageana*
(Cactaceae)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A :

ITZEL ARELI SANTIAGO SANDOVAL



**DIRECTOR DE TESIS:
Dr. Ulises Yunuén Rosas López
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2020**



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.

1. Datos del alumno

Santiago
Sandoval
Itzel Areli
70 32 33 77
Universidad Nacional Autónoma de
México
Facultad de Ciencias
Biología
312113144

2. Datos del tutor

Dr.
Ulises Yunuén
Rosas
López

3. Datos del sinodal 1

Dra.
Rosalinda
Tapia
López

4. Datos del sinodal 2

Dra.
Sofía
Solórzano
Lujano

5. Datos del sinodal 3

Dr.
Ángel Salvador
Arias
Montes

6. Datos del sinodal 4

Dra.
Margarita
Collazo
Ortega

7. Datos del trabajo escrito

Caracterización fenotípica de las raíces de
plántulas de *Mammillaria haageana*
(Cactaceae).
95 p.
2020

A Elena, Alfredo y Belén

Agradecimientos Académicos

A la Universidad Nacional Autónoma de México y la Facultad de Ciencias por darme la oportunidad de estudiar Biología.

Al Dr. Ulises Rosas por invitarme a ser parte de este proyecto, por la paciencia, guía e inspiración.

A mis sinodales: Dra. Rosalinda Tapia, Dra. Sofía Solórzano, Dr. Salvador Arias y Dra. Margarita Collazo, por tomarse el tiempo de revisar y contribuir al enriquecimiento de este trabajo.

A los integrantes del proyecto *Mammillaria haageana*, por la retroalimentación, el apoyo en campo y laboratorio: Dra. Ana Wegier, Dr. Salvador Arias, M. en C. Brenda Calderón y el M. en C. Cristian Cervantes.

Al Laboratorio de Genómica Funcional (CONACyT-268109) y el Jardín Botánico de la UNAM por prestar las instalaciones para llevar a cabo este trabajo.

A los proyectos PAPIIT-DGAPA-UNAM IA200217 e IN211319 por el apoyo financiero y becas.

Al Dr. Salvador Arias y la M. en C. Yolanda Morales por la confianza y préstamo del espacio en el invernadero.

Al Biól. Jerónimo Reyes Santiago por proporcionar material biológico.

A la Dra. Teresa Valverde por el recorrido en la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel.

A las profesoras del Taller Evolución de plantas: Dra. Rosalinda Tapia, Dra. Alejandra Vasco, Dra. Ivalú Cacho, Dra. Florencia Campusano y la Dra. Susana Magallón. Gracias por la formación personal y profesional.

Agradecimientos Personales

A toda mi familia, también Ryu. Muchas gracias por su esfuerzo y darme lo mejor, sí he llegado hasta aquí es gracias a ustedes. Gracias por el amor y apoyo, gracias por dejarme estudiar lo que más me gusta. Los amo.

A Ulises, el mejor tutor que pude tener. Muchas gracias por compartir tu tiempo conmigo, por el apoyo emocional, la paciencia, motivación, confianza, aliento y amistad. No lo hubiera logrado sin tu ayuda. Aprecio mucho todo lo que me has enseñado y lo que has invertido en mi formación académica y personal.

A mis colegas y amigos del Laboratorio de Biología de Raíces: Shushu, Toño, Andy, Joel, Fer Chávez y Sofi. Por los ánimos, retroalimentación, el trabajo en equipo y las experiencias juntos.

A Cristian Cervantes y Brenda Calderón, por la ayuda en campo, invernadero y laboratorio.

A mis amigos del Taller Evolución de Plantas: Vero, Andy, Brenda, Vale, Fer, Joel y Jony. Gracias por el apoyo y retroalimentación.

A mis amigos de la Facultad de Ciencias, por el camino que recorrimos juntos: Gera, Vic, Hugo, Johar, Bety, Kenia L. y Marcos.

A Paula y Ana, muchas gracias por su amistad durante toda la carrera, no lo hubiera logrado sin su compañía. Ambas son muy brillantes, valientes y valiosas. Las admiro, nunca se rindan.

A Aarón, mi *Pavo cristatus*. Te quiero muchísimo, gracias por estar conmigo y darme ánimos para seguir adelante. Estoy muy feliz de haber coincidido contigo en esta vida. Eres una hermosa persona y mereces lo mejor.

A Carlos, Moni, Hugo y Aarón (los dos últimos, otra vez jaja), gracias por darme apoyo cuando más lo necesitaba.

A mis amigos de UNIVERSUM de las salas Agua y Océano, son muy importantes para mí, agradezco los buenos momentos y el trabajo interdisciplinario junto a ustedes.

A Lesly, Fati y Rafa. Porque lo prometimos, los quiero.

A Angélica, mejores amigas por siempre.

A Noe, Alex y Jeff. El mundo cabe en un zapato.

A Felisa, Vecó y Percival, gracias por su trabajo duro.

Índice

1. Resumen	8
2. Introducción.....	9
3. Antecedentes.....	11
3.1 Anatomía de raíces.....	11
3.2 Zonas de desarrollo de la raíz	12
3.3 Clasificación de raíces por su origen de desarrollo	13
3.4 Arquitectura de la raíz y variación natural.....	15
3.5 Plasticidad fenotípica.....	16
3.6 Raíces de cactáceas	18
3.7 El género <i>Mammillaria</i>	20
3.8 <i>M. haageana</i> y sus subespecies	20
3.9 <i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i>	21
4. Hipótesis	22
5. Objetivos	22
6. Área de estudio	23
7. Métodos.....	25
7.1 Trabajo de campo.....	25
7.2 Trabajo de laboratorio.....	25
7.2.1 Clasificación de semillas.....	25
7.2.2 Germinación de semillas en condiciones <i>in vitro</i>	28
7.2.3 Trasplante de plántulas a placas verticales	30
7.2.4 Mediciones de las raíces	31
7.2.5 Análisis estadísticos.....	32
8. Resultados	33
8.1 Observaciones sobre los hábitats y ambientes donde se encuentra <i>M. haageana</i> . 33	
8.2 Germinación.....	36
8.3 Caracterización fenotípica de las raíces	39
8.3.1 Caracterización cualitativa.....	39
8.3.2 Caracterización cualitativa.....	42
9. Discusión	63
9.1 Caracterización fenotípica de las raíces de <i>M. haageana</i>	63
9.2 Estrategias de crecimiento de las raíces	66

9.3 Engullimiento de la raíz principal por el tallo.....	68
9.4 Observaciones de los hábitats y ambientes de <i>M. haageana</i>	69
9.5 <i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i>	70
9.6 Germinación.....	71
9.7 Consideraciones y perspectivas.....	71
10. Conclusiones.....	73
11. Referencias	75
Anexos.....	82

Lista de abreviaturas

AR	Arquitectura de la raíz
d	Días
IB	Instituto de Biología
JB	Jardín botánico
<i>M.h.san</i>	<i>Mammillaria haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i>
<i>n</i>	Número
RA	Raíces adventicias
RB	Raíces basales
REPSA	Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel
RL	Raíces laterales
RL2	Raíces laterales de segundo y/o tercer orden
RP	Raíz principal
RT	Raíz total

1. Resumen

La mayor parte de las investigaciones sobre las raíces utilizan como modelo a *Arabidopsis thaliana* y cultivos de interés comercial; uno de los temas que suele abordarse es la variación natural, que es la diversidad de fenotipos presente dentro de las especies. En este trabajo se utilizó como modelo a *Mammillaria haageana*, que es una cactácea morfológicamente compleja cuyas variantes locales han sido descritas como subespecies. Tiene una amplia distribución geográfica que va desde el centro y hasta el sur de México, por lo que el hábitat de esta especie es variable ya que se ha encontrado creciendo en rocas basálticas y calizas, en áreas cubiertas por matorral xerófilo y bosque tropical deciduo, en asociación con roble, pino y junípero, y desde los 700 a los 2740 msnm. El objetivo de este trabajo fue caracterizar las raíces de plántulas de *Mammillaria haageana* en etapas tempranas de desarrollo para conocer la variación natural fenotípica. Para ello, se colectaron plantas y semillas de 18 sitios que se distribuyen en Puebla, Veracruz y Oaxaca. Al material biológico de cada sitio se le dio un código y se le nombró "accesión". Se germinaron aproximadamente 200 semillas de 14 accesiones en condiciones *in vitro*. En el día 45 después de la germinación, las plántulas de 10 accesiones fueron trasplantadas a placas Petri en posición vertical en las mismas condiciones de germinación. Las placas fueron escaneadas cada semana durante cinco meses y con las imágenes digitales que se obtuvieron se hicieron observaciones cualitativas y cuantitativas, que son las mediciones de la longitud y conteos del número de diferentes tipos de raíces (raíz principal, raíces basales, raíces laterales, raíces adventicias y la raíz total, que es la suma de los caracteres anteriores) en cinco etapas de desarrollo: 45, 73, 101, 129 y 157 días después de la germinación. Se hizo una prueba estadística no paramétrica de Kruskal-Wallis y una prueba post-hoc por cada etapa de desarrollo y para cada atributo de las raíces. Se encontró una gran variación en las formas de desarrollo y dinámicas de crecimiento de las raíces entre y dentro de las accesiones. De manera general, el crecimiento de la RP de las plántulas de las accesiones se estanca en los días 129 y 157, lo cual se ve compensado por el aumento de la longitud de raíces laterales o adventicias. Se identificaron diferentes estrategias de crecimiento como una mayor longitud de raíces adventicias cuando la longitud de las raíces laterales es menor y viceversa, esto se observó en las accesiones CC024 y CC031. La presencia de raíces basales en *M. haageana* parece ser atípica. Además, se observó el crecimiento simpodial y en segmentos de las raíces y un fenómeno de engullimiento de la raíz principal por el brote. Ya que las plántulas crecieron en un ambiente estable, se especula que la diversidad en las formas de los diferentes tipos de raíces está determinada principalmente por el genotipo.

2. Introducción

La raíz es un órgano crítico para la supervivencia de las plantas en etapas tempranas del desarrollo ya que tiene diversas funciones como la absorción y transporte de agua y nutrientes, la síntesis de hormonas, el anclaje de la planta al sustrato y soporte del tallo, el almacenamiento de compuestos de reserva, el establecimiento de interacciones con microorganismos, exploración del sustrato, entre otras (Hodson y Bryant, 2012; Zlotnik y Ponce, 2013). Además, recientemente se ha descrito la función de barrera, que consiste en la restricción selectiva de la entrada de compuestos inadecuados o tóxicos para la planta (De-Jesús-García *et al.*, 2020).

En las cactáceas, el establecimiento de las plántulas después de la germinación es crucial ya que suelen enfrentarse a condiciones inhóspitas como radiación solar extrema, altas y bajas temperaturas y el déficit de nutrientes. Además, las plántulas están expuestas a depredación por roedores, aves, hormigas, lagartijas y otros mamíferos (Rojas-Aréchiga y Vásquez-Yanes, 2000). En la literatura se ha abordado la relación de nodricismo de cactáceas globosas y pequeñas con plantas arborescentes y arbustivas, e incluso, en asociación de nodricismo abiótico con rocas (Peters *et al.*, 2008). Estos factores proveen de mayor humedad y protección solar a las plántulas. Como resultado, se ve influenciada la mayor supervivencia de plántulas e individuos adultos (Valiente-Banuet *et al.*, 1991; Peters *et al.*, 2008).

El sistema de raíces de una planta suele ser muy complejo porque las condiciones ambientales pueden modificarlo. La arquitectura de la raíz (AR) es la configuración espacial de las raíces de una planta (Lynch, 1995). El estudio de la AR suele hacerse en accesiones de *Arabidopsis thaliana* y cultivos de interés alimenticio y económico (Walk *et al.*, 2006; Acuña y Wade, 2013; Ristova *et al.*, 2013; Rosas *et al.*, 2013; Alaguero-Cordovilla *et al.*, 2018). Algunos de los parámetros de las raíces que suelen estudiarse son la longitud, diámetro, número, distribución y ángulos de crecimiento de diferentes tipos de raíces, como son la raíz principal, las raíces laterales y de segundo o mayor orden, las raíces basales, las raíces adventicias y los pelos radicales (Lynch, 1995, Bao *et al.*, 2014; Miguel *et al.*, 2015, Alaguero-Cordovilla *et al.*, 2018). Uno de los temas que suele abordarse es la variación natural de las raíces, que es la diversidad de fenotipos presente dentro de las especies (Alonso-Blanco *et al.*, 2009). La variación natural de las raíces dentro de una especie puede revelar estrategias de crecimiento y respuestas ante una gran variedad de estímulos ambientales debido a la heterogeneidad de

la disponibilidad de nutrientes y agua en el suelo, la temperatura, la precipitación, animales herbívoros y microorganismos (Lynch, 1995; Vaughn y Masson, 2011; Gruber *et al.*, 2013). Los experimentos en laboratorio permiten controlar las condiciones ambientales, lo cual representa una ventaja para entender las bases genéticas de la variación natural, ya que, al homogeneizar el ambiente, se espera que los fenotipos estén asociados a la variación dada por el genotipo (Gruber *et al.*, 2013; Paez-García *et al.*, 2015; Tello, 2019).

La especie *Mammillaria haageana* es una cactácea endémica de México, con una amplia distribución geográfica en Morelos, Veracruz, Puebla, Oaxaca y, de manera aislada, en la Ciudad de México. El hábitat de esta especie es particularmente variable ya que se ha encontrado creciendo en rocas basálticas y calizas, en áreas cubiertas por matorral desértico xerófilo y bosque tropical deciduo, en asociación con roble, pino y junípero de 700 a 2740 msnm (Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015). Las variantes locales han sido descritas como subespecies, las cuales suelen variar en número dependiendo del autor. En este trabajo se estudiarán solamente cinco subespecies de las siete reconocidas por Guzmán y colaboradores (2003), las cuáles son: *M. haageana* subsp. *haageana*, subsp. *meissneri*, subsp. *conspicua*, subsp. *acultzingensis* y subsp. *san-angelensis*. Esta última subespecie es un caso particular ya que su distribución se restringe a la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA) en la Ciudad de México (Hunt, 2006; Arias, 2009), y actualmente se considera en peligro de extinción (SEMARNAT, 2010). En resumen, *M. haageana* es una especie que se encuentra en diferentes ambientes y a nivel morfológico del tallo, tiene diferentes patrones de desarrollo. Sin embargo, no se ha estudiado la variación morfológica de las raíces.

En años más recientes, la REPSA, el Jardín Botánico (JB) y el Instituto de Biología (IB) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) se han dado a la tarea de iniciar las investigaciones pertinentes para diferenciar las subespecies de *M. haageana* y generar información sobre la especie en diferentes ámbitos como la genómica, sistemática, ecología, conservación, biología del desarrollo, entre otros temas. Es así, que el objetivo principal de este trabajo fue caracterizar las raíces de plántulas de *Mammillaria haageana* en etapas tempranas de desarrollo para conocer la variación natural fenotípica dentro de la especie, además de identificar caracteres de desarrollo de los diferentes tipos de raíces que se comparten o difieren entre accesiones. Esto puede ayudar a proponer hipótesis sobre el origen de dicha variación en el contexto de las condiciones ambientales de los sitios de origen de las accesiones.

3. Antecedentes

3.1 Anatomía de raíces

La raíz es un órgano esencial para el establecimiento y supervivencia de las plantas. Las raíces tienen diversas funciones como la absorción y transporte de agua y nutrientes del suelo, la síntesis de reguladores de crecimiento, brindar anclaje al sustrato y soporte mecánico de la parte aérea de la planta, además de mediar las interacciones biológicas con microorganismos asociados a la interfase suelo-raíz, el almacenamiento de compuestos de reserva y la función de barrera. Esta última función consiste en que los tejidos que conforman la raíz pueden restringir y evitar selectivamente la entrada de compuestos inadecuados para el crecimiento de la planta, como podrían ser metales pesados, semimetales y otros solutos que pudieran resultar tóxicos para la planta (Hodson y Bryant, 2012; Zlotnik y Ponce, 2013; De-Jesús-García *et al.*, 2020).

En plantas vasculares, la raíz principal empieza su desarrollo a partir de la radícula, estructura presente en la embriogénesis. Durante la germinación, esta raíz crece y es posible identificar que está conformada por diferentes tejidos los cuales son el sistema vascular, periciclo, endodermis, córtex y epidermis (Esau, 1977), (Figura 1A). A partir de la configuración transversal de la raíz, y de adentro hacia afuera, se puede distinguir en primer lugar el sistema vascular que se encarga de transportar agua y nutrientes, el cual está conformado por el xilema y el floema. El cilindro vascular, compuesto por el sistema vascular y el periciclo, tiene su origen en células iniciales vasculares. El periciclo está formado por células parenquimáticas que adquieren actividad meristemática cuando se forman raíces laterales. Después se encuentra el córtex, el cual es diferente de adentro hacia afuera y está conformado por la endodermis, la zona cortical central y la exodermis. La endodermis, es la capa más interna del córtex y delimita al cilindro vascular. Está formada por un anillo uniestratificado de células que carece de espacios intercelulares y se caracteriza por la presencia de la banda de Caspary, que consiste en depósitos de lignina y suberina entre las paredes transversales de las células de la endodermis (Zlotnik y Ponce, 2013). La lignina y la suberina son hidrofóbicas, por lo tanto, la banda de Caspary impide que el agua y sales se muevan de manera libre hacia el tejido vascular por la vía apoplástica, esto quiere decir, a través de espacios entre las células. Por lo tanto, el transporte sólo sucede por la vía simplástica, atravesando las células (Figura 1B), (Ortega y Collazo, 2013). La zona cortical central de la endodermis usualmente está formada por células parenquimáticas de pared delgada y numerosos espacios aéreos, lugar donde

ocurre el almacenamiento de reservas como el almidón. La exodermis, cuando está presente, consta de uno o dos estratos de células, y sus paredes están engrosadas parcial o completamente por suberina y lignina (Zlotnik y Ponce, 2013). Por último, la epidermis es una capa de células uniestratificadas que pueden dar lugar a pelos radicales (Dolan *et al.*, 1993). En cuanto a los pelos radicales, son prolongaciones unicelulares de forma tubular de las células epidérmicas de la raíz. Los pelos radicales pueden variar en densidad y longitud, son importantes para la adquisición de nutrientes inmóviles como el fósforo y agua (Wang *et al.*, 2004; Ortega y Collazo, 2013; Miguel *et al.*, 2015).

3.2 Zonas de desarrollo de la raíz

En *Arabidopsis thaliana* se han identificado tres zonas de desarrollo de la raíz (Fig. 1A), las cuales se ubican de manera longitudinal, en el eje distal a proximal, comenzando por la zona meristemática, donde las células se dividen y donde se localizan las células que perpetúan el meristemo. La zona meristemática está protegida por una cofia (o caliptra), la cual está formada por células que contienen una gran cantidad de mucílago para poder lubricar a las raíces en crecimiento durante su penetración en el sustrato (Dolan *et al.*, 1993; Zlotnik y Ponce, 2013). Después, sigue la zona de elongación, en la que las células dejan de dividirse e incrementan en longitud. Finalmente está la zona de diferenciación, donde las células adquieren características y funciones especializadas, además de que ahí comienza el desarrollo de las raíces laterales; se caracteriza por la presencia de la banda de Caspary en la endodermis y pelos radicales (Verbelen *et al.*, 2006).

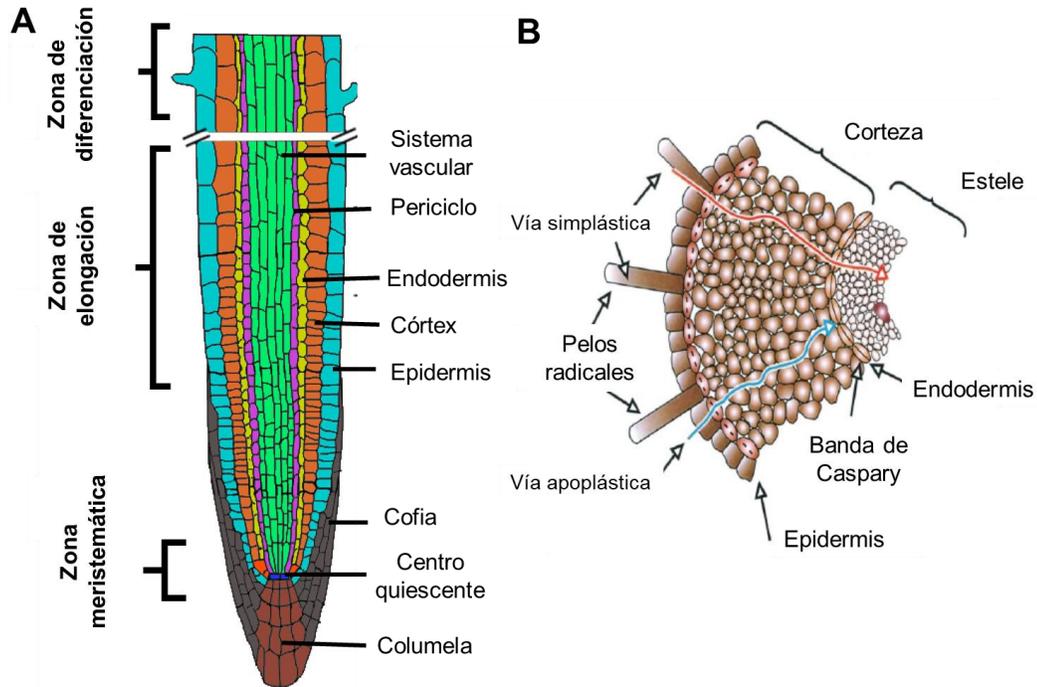


Figura 1. Anatomía de la raíz de *Arabidopsis thaliana*. A. Sección transversal de la raíz, se indican los tejidos que la componen y las zonas de desarrollo. B. Sección radial de la raíz, se indican las rutas de transporte de solutos por la vía simplástica y apoplástica. Modificado de De Smet *et al.*, 2015 y Ortega y Collazo, 2013.

3.3 Clasificación de raíces por su origen de desarrollo

Las raíces también pueden distinguirse a partir de su origen de desarrollo. Cuando la radícula crece durante la germinación se le llama raíz primaria (Hodson y Bryant, 2012). La raíz primaria tiende a mantenerse activa durante todo el ciclo de vida y a partir de esta, surgen las raíces laterales (Atkinson *et al.*, 2014). El inicio de las raíces laterales comienza con la activación de las células precursoras del periciclo, que, con base en varias rondas de divisiones celulares anticlinales, periclinales y tangenciales, dan lugar a los primordios de las raíces laterales. Estos deben emerger a través de la endodermis, el córtex y la epidermis; la elongación y crecimiento continúan de tal manera que se conforma una anatomía de tejidos como la encontrada en la raíz primaria (Malamy y Benfey, 1997; Dubrovsky *et al.*, 2006; Dubrovsky y Forde, 2012). Si bien las raíces laterales son similares en anatomía a la raíz primaria, generalmente son de menor diámetro debido a un número reducido de capas de células corticales y del sistema vascular. Las raíces laterales pueden presentar el crecimiento de raíces de segundo, tercer o mayor orden. En *Arabidopsis thaliana*, cereales y cultivos de interés, se ha observado que, una

mayor longitud y densidad de raíces laterales permite mayor exploración del suelo y, por lo tanto, mejora la adquisición de los recursos del sustrato (López-Bucio *et al.*, 2002; Shimizu *et al.*, 2004).

Las raíces adventicias son aquellas que se desarrollan en cualquier parte de la planta diferente al meristemo subapical. Usualmente, este tipo de raíces emergen en la capa superior del suelo y, por lo general, tienen ángulos de crecimiento poco profundos, por lo que fomenta la adquisición de nutrientes en la capa superficial del sustrato (Walk *et al.*, 2006; Rubio y Lynch, 2007). Se ha visto que las raíces adventicias pueden formarse en respuesta a señales ambientales como daños mecánicos, anoxia provocada por inundaciones, estrés biótico o en respuesta a hormonas durante el cultivo de tejidos (Rubio y Lynch, 2007; Eysholdt-Derzsó y Sauter, 2019). Un ejemplo de esto es *Echinocactus platyacanthus*, una cactácea que crece en ambientes áridos salinos, y en la que en experimentos con plántulas *in vitro* se ha encontrado que la exposición prolongada a altas concentraciones de salinidad, promueven el crecimiento de las raíces adventicias y basales, aunado a la inhibición del crecimiento de la raíz principal (Rosas, comunicación personal).

Las raíces basales son comunes en las monocotiledóneas y crecen en la base del brote tendiendo a ser fibrosas. En el frijol común, las raíces basales emergen en la interfaz del brote y la raíz. El crecimiento de estas raíces está asociado a la adquisición de fósforo ya que está correlacionada con la poca profundidad que alcanzan (Bonser *et al.*, 1996; Walk *et al.*, 2006).

Rubio y Lynch (2007) hicieron experimentos para identificar mecanismos de compensación cuando se pierde parte del sistema de raíces. Sembraron semillas de frijol en medios de cultivo con tratamientos en los que cortaron parte del sistema radical de las plántulas (raíces adventicias, raíces basales o raíz primaria) y en condiciones de alto y bajo fósforo. Encontraron diferentes patrones de regeneración ya que la ausencia de un tipo específico de raíces indujo el crecimiento de los otros tipos. Por ejemplo, la pérdida de raíces adventicias se vio compensada por raíces que se desarrollan de manera poco profunda como las raíces basales o laterales. Otro ejemplo es que, en condiciones de alto fósforo, las raíces adventicias tuvieron mayor biomasa que las raíces laterales de la raíz principal. También se ha observado que las raíces adventicias del frijol común, en condiciones de laboratorio e invernadero, tienen menor costo metabólico en su producción que las raíces laterales. Por lo que, en condiciones desfavorables, como la deficiencia de fósforo, las plantas apuestan por este tipo de raíces (Miller *et al.*, 2003;

Walk *et al.*, 2006). Lo anterior indica diferentes estrategias de crecimiento hacer más eficiente la exploración del suelo.

3.4 Arquitectura de la raíz y variación natural

En la naturaleza, la heterogeneidad de las condiciones bióticas y abióticas de cada ambiente particular puede modificar el sistema de raíces. La AR es la configuración espacial de las raíces de una planta (Figura 2), (Lynch, 1995). El estudio de las raíces abarca aspectos como la longitud, diámetro, número, distribución y ángulos de crecimiento de diferentes tipos de raíces como la raíz principal, las raíces laterales y de segundo o mayor orden, las raíces adventicias y los pelos radicales. En la actualidad, la mayor parte de las investigaciones sobre la AR utilizan como modelo a *A. thaliana* y cultivos de interés comercial como tomate, arroz, soya, frijol, maíz, trigo, etc. (Walk *et al.*, 2006; Lynch, 2011, Acuña y Wade, 2013; Ristova *et al.*, 2013; Miguel *et al.*, 2015; Alaguero-Cordovilla *et al.*, 2018).

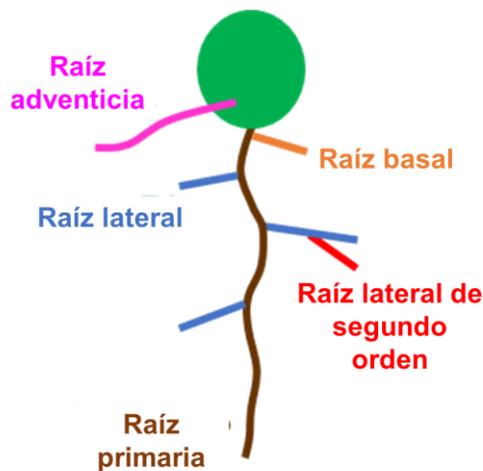


Figura 2. Tipos de raíces en una planta.

Uno de los temas que suele abordarse es la variación natural de las raíces, que es la diversidad de fenotipos presente dentro de las especies (Alonso-Blanco *et al.*, 2009). El estudio de los fenotipos de la AR en campo es complejo ya que interactúan muchas variables ambientales como la heterogeneidad de nutrientes y agua en el suelo, la temperatura, la precipitación, animales herbívoros y microorganismos que pueden afectar la configuración de las raíces (Lynch, 1995; Vaughn y Masson, 2011; Gruber *et al.*, 2013).

Por lo tanto, se han desarrollado diferentes métodos de experimentación en parcelas, invernadero y laboratorio. Los experimentos en laboratorio suelen ser la primera opción cuando se requiere reducir el efecto de ciertos factores ambientales porque las plantas pueden crecer en condiciones controladas y replicables. Eso representa una ventaja para entender las bases genéticas de la variación natural, ya que, al homogeneizar el ambiente, se espera que la AR muestre fenotipos principalmente asociados a la variación dada por el genotipo (Paez-García *et al.*, 2015; Tello, 2019) Por lo tanto, conocer los fenotipos es el primer paso en el estudio de la variación natural (Alonso-Blanco y Koornneef, 2000). A pesar de que la AR es 3D, la observación en placas permite entender algunos aspectos del crecimiento de la raíz, la visualización directa de las raíces en 2D, la obtención no destructiva de imágenes en tiempo real y analizar una gran cantidad de individuos o genotipos en un espacio reducido (Gruber *et al.*, 2013; Paez-García *et al.*, 2015). Incluso se han desarrollado herramientas de software para el fenotipado de la AR, uno de ellos es RootScape, el cual está adaptado para tomar puntos de referencia en las raíces de *Arabidopsis thaliana* y medir la AR como un único sistema integrado (Ristova *et al.*, 2013). También se han realizado experimentos con rayos X y, en años más recientes, se han utilizado tomografías y reconstrucciones en 3D (Bao *et al.*, 2014).

En el caso de *Arabidopsis thaliana*, en las primeras etapas de investigación, se caracterizaron fenotípicamente las plantas recolectadas de diferentes regiones. Al material biológico colectado en un lugar en específico se le llama accesión y se le asigna un identificador único dentro de una colección, (Laibach, 1951 y Kugler, 1951; citados en Alonso-Blanco y Koornneef, 2000). De manera más reciente, las investigaciones se han enfocado en encontrar la fuente genética de la variación, ejemplo de esto es el trabajo de Vaughn y Masson (2011); ellos sembraron semillas de *A. thaliana* en placas en posición vertical y con agar, siguieron el crecimiento de la raíz principal e identificaron diferentes patrones de crecimiento que contrastaron entre ellos respecto a la ondulación dada por el gravitropismo. Posteriormente, eligieron los fenotipos más contrastantes correspondientes a las accesiones Cvi y Ler, cuyas plántulas presentaron poca y gran ondulación. Al final, los autores propusieron las posibles regiones cromosómicas que regulan los fenotipos de ondulación observados gracias a un mapeo genético.

3.5 Plasticidad fenotípica

Respecto a la influencia del ambiente en la forma de las raíces, se han hecho estudios sobre plasticidad fenotípica, tal es el caso del trabajo de Gifford y colaboradores (2013), sembraron

semillas de 96 accesiones de *A. thaliana* en dos tratamientos de N bajo (0.03mM) y alto (5 mM). Las accesiones mostraron diferentes patrones de crecimiento en el sistema de raíces frente a los dos tratamientos. Además, las accesiones que se agruparon por sus similitudes en el sistema de raíces en N bajo mostraron diferentes agrupamientos en N alto. Un ejemplo de los fenotipos observados es el caso de las raíces de las plántulas de la accesión Kas-2. En bajo N, se observaron pocas raíces laterales cortas que crecieron de manera muy espaciada sobre la raíz principal mientras que, en el tratamiento de N alto, la raíz principal fue más grande al igual que las raíces laterales, las cuales crecieron con menor espacio entre sí. Otro ejemplo es el trabajo de Rosas y colaboradores (2013), sembraron semillas de la accesión Col-0 y de otras 69 accesiones naturales de *A. thaliana* en diferentes tratamientos como la adición de auxina, citoquinina, ácido abscísico, nitrato y cloruro de amonio. Observaron gran variación fenotípica dentro y entre las accesiones en los tratamientos. En el caso de Col-0, las plántulas presentaron raíces laterales que crecieron sólo hasta la mitad de la raíz principal, quedando la otra mitad sin ellas. Esto en contraste del tratamiento con auxina donde las raíces laterales se observaron en mayor proporción y cubrieron toda la longitud de la raíz principal. Con base en análisis alométricos de las raíces y mapeos genéticos, los autores sugirieron que la variación de los fenotipos de las raíces dentro de una accesión (Col-0) frente a un tratamiento en específico tiene un rango de variación similar al observado en accesiones naturales bajo las mismas condiciones. Martínez-Berdeja y Valverde (2008) estudiaron la tasa de crecimiento relativo y la proporción raíz/tallo en plántulas de *Mammillaria pectinifera*, *Obregonia denegrii* y *Coryphantha werdermanni*. Sembraron semillas en diferentes tratamientos de radiación solar (40 y 100%) y de humedad (5, 25 y 60%). Las tres especies tuvieron tasas de crecimiento lentas y aumentaron con la humedad, no presentaron diferencias frente a los tratamientos de radiación solar. También calcularon el índice de plasticidad respecto a la tasa de crecimiento entre los tratamientos de humedad y encontraron que *O. denegrii* tuvo un índice mayor a comparación de las otras dos especies. Lo cual atribuyen a que las raíces de *O. denegrii* son fusiformes y pueden almacenar mucha agua, además de tener un tallo subgloboso, a comparación de las otras dos especies que son globosas y tienen raíces fibrosas. Lo anterior fue interpretado como diferentes formas de enfrentar la variación ambiental. Los trabajos anteriores contribuyen al conocimiento de cómo los genotipos pueden adaptarse a diferentes condiciones ambientales.

Otro ejemplo interesante es el trabajo de Wilczek y colaboradores (2014) en el cual probaron la adaptación rezagada de accesiones de *A. thaliana* a los climas cálidos. Sembraron semillas de 241 accesiones provenientes de diferentes puntos geográficos de Europa y Asia, en cuatro

sitios correspondientes a la distribución natural de la especie, los cuales fueron: Valencia, España; Norwich, Reino Unido; Halle, Alemania; y Oulu, Finlandia. Con base en el cálculo de la adecuación de cada accesión (dado por el número y longitud de las silicuas, frutos de la especie en cuestión), se encontró que las accesiones de climas similares a cada sitio de plantación tuvieron una alta adecuación, a comparación de las accesiones de climas diferentes. Lo anterior es evidencia de una adaptación geográfica a gran escala en esta especie modelo.

3.6 Raíces de cactáceas

La raíz de las cactáceas es un órgano muy variable en su forma. Generalmente, el sistema radical está constituido por una raíz principal que es el sistema de fijación, ya que se introduce verticalmente en el suelo. Las raíces laterales intervienen en la absorción debido a la longitud, profundidad y grado de ramificación que adquieren (Bravo-Hollis, 1978). En cactáceas columnares, el crecimiento de la raíz principal sirve como anclaje al sustrato mientras que el sistema de raíces laterales tiende a crecer de manera radial y lateral para alcanzar mayor área de cobertura de suelo y, por lo tanto, de captación de agua en ambientes desérticos. En cactáceas pequeñas y globosas suelen presentarse sistemas de raíces compactos con muchas laterales que se desarrollan de manera poco profunda, lo cual puede estar asociado a sustratos someros (Gibson y Nobel, 1986).

En algunas especies, las raíces pueden almacenar agua y nutrientes dando origen a diversas formas. En *Ariocarpus agavoides* y *Mammillaria napina* las raíces son napiformes. En *Peniocereus greggii* es napiforme al principio y luego crece hasta producir un tubérculo que llega a medir de 15 a 60 cm, y pesar hasta 56 kg; en *Ancistrocactus megarhizus*, *Pterocactus tuberosus* y *Thelocactus mandragora* la raíz principal es tuberosa; en *Echinocereus poselgeri* la raíz es tuberosa fasciculada; y en *Opuntia megarhiza* la raíz es tuberosa claviforme. Las raíces adventicias son frecuentes en cactáceas arborescentes y surgen de areolas basales del tallo y, en ocasiones, pueden sustituir a las procedentes de la radícula ya que las adventicias se extienden en mayor longitud. En cactáceas trepadoras y epífitas como *Rhipsalis*, *Selenicereus*, *Hylocereus* y *Epiphyllum* son comunes las raíces aéreas que aparecen en las paredes de los tallos y en los espacios intercostales, teniendo origen en el cámbium del tallo (Bravo-Hollis, 1978; Haustein, 1988), y por tanto pueden catalogarse como raíces adventicias.

Las raíces basales de las cactáceas se desarrollan en una zona de transición entre el brote y la raíz, en una zona donde los tejidos no se encuentran totalmente diferenciados. González (2019) encontró que el crecimiento de raíces basales es variable en once especies de *Mammillaria*; además, se encontró que este tipo de raíces pueden extender el crecimiento horizontal del sistema de raíces, lo cual podría fomentar una mayor área de captación de nutrientes y agua.

En cactáceas se ha estudiado sobre el crecimiento determinado de la raíz, el cual consiste en que la raíz primaria crece y el meristemo se agota poco después de la germinación, dando lugar al crecimiento de pelos radicales en el ápice de la raíz primaria. De manera subapical, empieza a desarrollarse una nueva zona meristemática. A partir de ella se forma un primordio de raíz que se elonga y cuyo meristemo, a su momento, vuelve a consumirse, de tal manera que el crecimiento de la raíz principal ocurre en segmentos y de manera simpodial (Boke, 1979; Dubrovsky, 1997a; Dubrovsky, 1997b; Dubrovsky y Gómez-Lomelí, 2003).

El crecimiento determinado también ocurre en las raíces laterales. El crecimiento determinado de la raíz principal y las raíces laterales se ha reportado en *Opuntia arenaria* (Boke, 1979), *Stenocereus gummosus* y *Ferocactus peninsulæ* (Dubrovsky, 1997b), *Pachycereus pringlei* (Dubrovsky y Gómez-Lomelí, 2003), once especies de *Mammillaria* (González, 2019) y de manera amplia dentro de la subfamilia Cactoideae (Shishkova *et al.*, 2013). En ambientes desérticos, esto puede representar una ventaja ya que la determinación de la raíz principal induce el desarrollo de las raíces laterales y, por lo tanto, facilita el establecimiento de la plántula al aumentar la superficie de la raíz y promover la absorción de agua y solutos (Shishkova *et al.*, 2013). En *Trichocereus candicans*, el desarrollo se da rápidamente a partir de la germinación, la radícula presenta pelos radicales largos y abundantes (Cenizo *et al.*, 2013). Se atribuye que el rápido desarrollo de las raíces en plántulas contribuye al aumento en la probabilidad de supervivencia.

Las investigaciones sobre plántulas de cactáceas suelen referirse a cuestiones anatómicas y morfológicas del brote y la raíz, además de la determinación de la raíz principal, y más recientemente, a los mecanismos genéticos que lo regulan (Loza-Cornejo y Terrazas, 2011; Cenizo *et al.*, 2013; Rodríguez-Alonso *et al.*, 2018). González (2019) describe con más detalle la variación en las dinámicas de crecimiento de raíces entre y dentro de once especies del género *Mammillaria*: *M. carnea*, *M. coahuilensis*, *M. crucigera*, *M. duwei*, *M. formosa*, *M.*

hernandezii, *M. huitzilopochtli*, *M. karwinskiana*, *M. lasiacantha*, *M. magnimamma* y *M. pectinifera*. A pesar de estar cercanamente relacionadas se encontró gran diversidad en los diferentes tipos de raíces.

3.7 El género *Mammillaria*

El género *Mammillaria* es el más grande en la familia Cactaceae, el número de especies depende del autor, con 155 especies según Hernández y Gómez-Hinostrosa (2015) y 169 especies reconocidas por Villaseñor (2016). En México, se registran el 98.7% (de 155 especies) de las especies y 88.2% son endémicas (Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015), por lo que es su centro de diversificación y se estima que surgió hace 7.6 - 6.3 Ma (Arakaki *et al.*, 2011).

Las plantas del género *Mammillaria* son pequeñas simples o ramificadas con tallos globosos, los tubérculos o mamilas carecen de surco y las areolas son dimórficas, originando espinas en el ápice del tubérculo y flores en la axila del mismo, las flores son subapicales y dispuestas en corona, son infundibuliformes o campanuladas y muestran una gran variedad de colores según la especie (blanco, amarillo, rosado, rojo o púrpura). El fruto es pequeño y claviforme, de color rosado, escarlata o verdoso (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991).

La mayoría de las especies de *Mammillaria* se encuentran en climas áridos o semiáridos y en matorral desértico o tipos de vegetación comparables. Son menos frecuentes en bosques tropicales deciduos, bosques de pino, encino y junipero. El género se distribuye desde el suroeste de los Estados Unidos hasta Centroamérica. En México, se encuentran desde el Desierto de Sonora y todos los estados de la vertiente del Pacífico mexicano hasta la depresión central de Chiapas (Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015).

3.8 *M. haageana* y sus subespecies

La especie *M. haageana* pertenece a la serie *Supertextae* según la clasificación de Hunt (2006). Esta especie representa un complejo que se extiende ampliamente en el centro y sur de México, en diferentes tipos de vegetación y se ha reportado su presencia en Puebla, Veracruz, Oaxaca, la Ciudad de México, Tlaxcala y Morelos. (Arias *et al.*, 2012).

La especie *M. haageana* es una especie con un patrón complicado de variación morfológica en las poblaciones naturales, lo cual ha sido un obstáculo para el reconocimiento específico de unidades taxonómicas por debajo del nivel de especie. Las variantes locales han sido descritas

como subespecies por taxónomos especialistas del género, no obstante, en la actualidad aún existe desacuerdo sobre ello. En este trabajo se estudiaron cinco de las siete subespecies descritas por Guzmán y colaboradores (2003), las cuáles son *M. haageana* subsp. *haageana*, subsp. *meissneri*, subsp. *conspicua*, subsp. *acultzingensis* y subsp. *san-angelensis* (Figura 3). Las características morfológicas que las distinguen son muy variables y algunas veces se comparten, además de que éstas pueden estar influenciadas por las condiciones ambientales. A grandes rasgos, se puede decir que *M. haageana* subsp. *haageana* presenta tallos simples con espinas blancas de ápice pardo, *M. haageana* subsp. *meissneri* tiene tallos simples o ramificados, en *M. haageana* subsp. *conspicua* los tallos suelen ser más anchos que largos, *M. haageana* subsp. *acultzingensis* tiene espinas amarillas y *M. haageana* subsp. *san-angelensis* puede presentar tallos simples con espinas blancas y ápices de color negro, lana en las axilas de los tubérculos que caducan con el tiempo (Sánchez-Mejorada, 1981; Hunt, 2006; Arias et al., 2012).

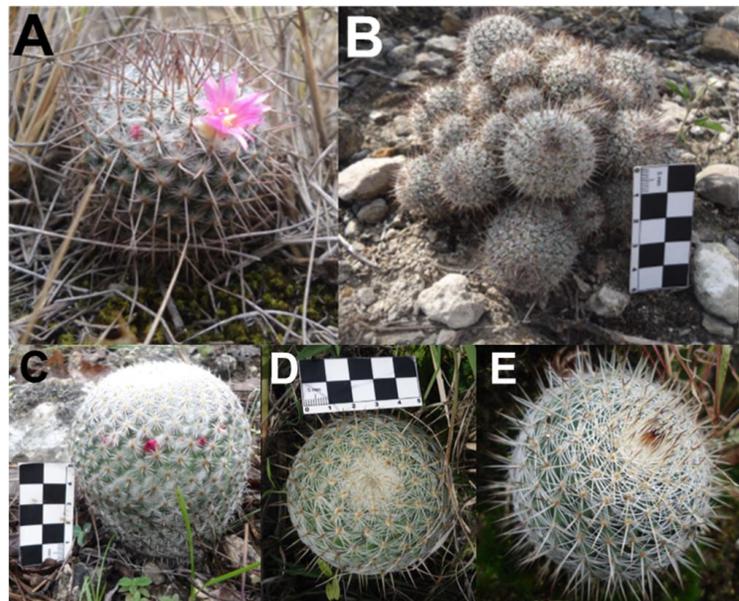


Figura 3. Subespecies de *M. haageana* de acuerdo con Guzmán et al., (2003). A. *M. haageana* subsp. *haageana*. B. *M. haageana* subsp. *meissneri*. C. *M. haageana* subsp. *conspicua*. D. *M. haageana* subsp. *acultzingensis*. E. *M. haageana* subsp. *san-angelensis*.

3.9 *M. haageana* subsp. *san-angelensis*

M. haageana subsp. *san-angelensis* es un caso particular ya que sólo se encuentra en la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA), circunscrita en la UNAM, en la Ciudad de México (Hunt, 2006 y Arias, 2009). Actualmente se encuentra protegida en el país ya que fue clasificada en la categoría de peligro de extinción (SEMARNAT, 2010), debido al saqueo,

fragmentación del hábitat y población extremadamente reducida. Bajo este contexto, la subespecie se ha tomado como objeto de investigación en diferentes campos como cultivo *in vitro* (Martínez-Vázquez y Rubluo, 1989), la citogenética (Palomino *et al.*, 1999), anatomía y biología reproductiva (Parrada, 2004), reintroducción de plantas y morfometría de los patrones de espinación (Cervantes, 2012). Respecto a la conservación, *M. haageana subsp. san-angelensis* es parte de las especies que se propagan en el JB-UNAM como parte del proyecto Centro de Adopción de Plantas Mexicanas en Peligro de Extinción. De esta manera, el público en general puede adoptar ejemplares de esta subespecie a cambio de una cuota de recuperación (Instituto de Biología, 2020).

En años más recientes, la REPSA, el JB e IB de la UNAM se han dado a la tarea de iniciar las investigaciones pertinentes para diferenciar las subespecies de *M. haageana* y así poder encontrar afinidades entre poblaciones que ayuden a recuperar a la cactácea endémica de la reserva ecológica, por lo cual, se busca generar información sobre la especie en diferentes ámbitos como la genómica, sistemática, ecología, conservación, biología del desarrollo, etc. Por lo tanto, en este trabajo se pretende contribuir con la caracterización fenotípica de las raíces de plántulas *M. haageana* para conocer la variación natural fenotípica.

4. Hipótesis

Al evaluar los fenotipos de las raíces de plántulas de *M. haageana*, procedentes de 10 sitios de colecta con condiciones ambientales distintas y crecidas en una condición controlada (*in vitro*), se espera observar diferencias, las cuales se especula que estarán determinadas principalmente por el genotipo, puesto que el ambiente es estable. Los fenotipos del sistema de raíces entre accesiones serán diferentes y, probablemente, la variación sea adaptativa.

5. Objetivos

Objetivo general

Caracterizar las raíces de plántulas de 10 accesiones de *Mammillaria haageana* en etapas tempranas de desarrollo para conocer la variación natural.

Objetivos particulares

- a) Caracterizar cualitativa y cuantitativamente el desarrollo de las raíces (raíz principal, raíces laterales, raíces laterales de segundo orden, raíces adventicias y raíces basales) de plántulas de *M. haageana*, en una condición experimental homogénea (*in vitro*) a los 45, 73, 101, 129 y 157 días después de la germinación. Las plántulas proceden de semillas colectadas en 10 sitios con condiciones ambientales distintas.
- b) Identificar caracteres de desarrollo de las raíces que se comparten o difieren entre accesiones de *M. haageana* para determinar si hay patrones que las distinguen.

6. Área de estudio

M. haageana se distribuye en Oaxaca, Puebla, Veracruz, Morelos y CDMX. La subsp. *haageana* se encuentra en el centro de Veracruz y al oeste del Cofre de Perote (municipios de Comapa, Jalcomulco, Maltrata y Perote), (Arias *et al.*, 2012). El clima de Perote es semiseco, templado, semifrío y con lluvias en verano. La temperatura media anual es de 4.4°C, la mínima, y de 21°C la máxima. La precipitación media anual es de 507.8 mm (SMN, 2020). La vegetación consta de matorrales, bosques de coníferas y zacatonales. Destaca el tipo de suelo andosol úmbrico, que presenta una proporción alta de hierro y aluminio, alta retención de fosfatos hasta una profundidad de 35 cm, textura limosa y fina que no se satura de agua y bajo contenido de materia orgánica (Arriaga *et al.*, 2000).

M. haageana tiene amplia presencia en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, el cual está dividido en dos grandes regiones: Tehuacán (sureste de Puebla) y Cuicatlán (norte de Oaxaca). La vegetación del Valle de Tehuacán está expuesta todo el año a una fuerte radiación solar y escasa nubosidad con gradientes de temperatura muy altos (de 30 a 35°C) en zonas bajas (700 msnm), a moderadas (de 25 a 28°C) en zonas altas (arriba de 1700 msnm). La vegetación es de tipo crassicaule (tallos gruesos), dominado por especies columnares y candelabriformes de 8 a 10 m de altura. El estrato bajo está dominado por arbustos espinosos de hoja pequeña que sirven como nodrizas para el desarrollo de una gran diversidad de cactáceas. Los patrones de distribución de la vegetación responden a factores ambientales como la pendiente, tipo de suelo, orientación de la ladera y msnm (Granados *et al.*, 2012). En Puebla se encuentra *M. haageana* ssp. *meissneri* en los municipios de Amozoc, Atexcal, Caltepec, Cañada de Morelos, Coxcatlán, Esperanza, Tepeyahualco, Tlalcotepec y Zapotitlán (Arias *et al.*, 2012). En el Valle

de Tehuacán predomina el suelo de tipo leptosol lítico, el cual es somero, limitado en profundidad por una capa de roca dura a los 10 de profundidad a partir de la superficie (Arriaga *et al.*, 2000).

En el Valle de Zapotitlán de las Salinas, porción occidental del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, se han identificado siete asociaciones vegetales en un gradiente de los 1,350 a los 1,700 msnm, las cuales fueron el matorral espinoso con espinas terminales (Caesalpiniaceae y Mimosaceae como grupos dominantes), tetechera (de *Neobuxbaumia tetetzo*), selva baja espinosa perennifolia (donde destaca *Prosopis laevigata*), tetechera-cardonal (*Neobuxbaumia tetetzo* y *Cephalocereus columna-trajani*), cardonal de *Stenocereus stellatus*, cardonal de *Cephalocereus columna-trajani* y selva baja caducifolia (Caesalpiniaceae, Fabaceae y Mimosaceae), (Osorio *et al.*, 1996). En las seis primeras comunidades se reportó la presencia de *M. haageana*, lo cual denota que tan sólo en el Valle de Zapotitlán hay una gran diversidad en la composición florística.

La Cañada de Cuicatlán se caracteriza por tener clima semiárido, la temperatura va de 14 a 26°C con precipitaciones anuales de 400 a 1100 mm de junio a septiembre. Se encuentran suelos de tipo cambisol cálcico, que son sustratos sometidos a un proceso de intemperización, el cual le da mayor o menor oxidación y por ende diferentes colores, estructura y consistencia. La vegetación se desarrolla en suelos someros de las laderas que se elevan hasta 2000 msnm. Las principales asociaciones vegetales en esta región son los bosques y matorrales espinosos, cardonales, tetecheras y quebrachales, con *Acacia unijuga* como especie dominante, (Granados *et al.*, 2012). En el noroeste y centro de Oaxaca se encuentra *M. haageana* subsp. *conspicua*.

M. haageana subsp. *acultzingensis* sólo se encuentra en el municipio de Acultzingo, Veracruz. Este lugar tiene temperaturas de 0 a 20°C y un rango de precipitación anual de 500 a 900 mm con clima templado subhúmedo, semiárido y lluvias en verano (Arias *et al.*, 2012; INEGI, 2009). La altitud va de 1350 a 1500 msnm. las asociaciones vegetales que predominan son el matorral de *Gochnatia obtusata*, organera de *Neobuxbaumia macrocephala*, y matorral de *Quercus sebifera* y *Nolina parviflora* (Rivera *et al.*, 2019).

En la actualidad, *M. haageana* subsp. *san-angelensis* sólo se encuentra en la REPSA, UNAM en Ciudad de México (Hunt, 2006 y Arias, 2009). El clima de la reserva es templado subhúmedo con lluvias en verano, se distingue la época lluviosa de junio a octubre y la época seca de noviembre a mayo. La altitud va de 2254 a 2349 msnm. y la temperatura media anual

es de 15.6 °C con precipitación media anual de 833 mm (Lot *et al.*, 2012). El suelo es escaso y poco profundo. La vegetación de la REPSA se ha descrito como matorral xerófilo, caracterizado por la abundante presencia del “palo loco” (*Pittocaulon praecox*). En el paisaje sobresale el conjunto de formaciones basálticas que se originaron por la solidificación de los flujos de lava que derramó la erupción del volcán Xitle hace aproximadamente 1670 años (Siebe, 2000).

7. Métodos

7.1 Trabajo de campo

Se hicieron dos colectas en campo, en mayo y septiembre del 2017, la primera colecta por ser temporada de fructificación y la segunda por cuestiones de logística; en los estados de Puebla, Veracruz y Oaxaca. El material biológico colectado constó de frutos y plantas provenientes de 18 sitios indicados para las subespecies antes señaladas (Figura 4 y Tabla 1). Se eligieron plantas al azar en cada sitio y se colectaron de uno a siete frutos dejando al menos tres de todos los disponibles en la planta. Los frutos fueron dispuestos en bolsas de papel glassine donde fueron separados y rotulados según la subespecie, número de planta, número de accesión y número de fruto. En la Tabla 1 se indican los datos meteorológicos, tomados de los registros de la estación más cercana a cada punto de colecta, por lo cual, esta última puede ser la misma para dos sitios.

El octubre del 2017 se hizo una visita a una población reintroducida de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* en la REPSA, donde se tomaron fotografías y observaciones sobre el hábitat.

7.2 Trabajo de laboratorio

7.2.1 Clasificación de semillas

Antes de que los frutos colectados presentaran deshidratación, se obtuvieron las semillas extendiendo la pulpa sobre hojas de papel dejando pasar un día para que se secaran y fuera más fácil obtenerlas individualmente y contarlas. Los datos de número de frutos por planta y número de semillas por fruto están disponibles en los Anexos 1 y 2. En el Anexo 1 se especifican los frutos que fueron colectados en campo y en el Anexo 2, los colectados en invernadero, durante los seis meses inmediatos a la colecta de las plantas. En el Laboratorio de Biología de Raíces del JB-UNAM se encuentra resguardada la colección de semillas de *M.*

haageana, la cual cuenta hasta la fecha con poco más de 10,000 semillas obtenidas de campo e invernadero. Las semillas de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* fueron obtenidas del Centro de Adopción de Plantas Mexicanas en Peligro de Extinción del JB-UNAM, en este trabajo se tratará como la accesión *M.h.san*.

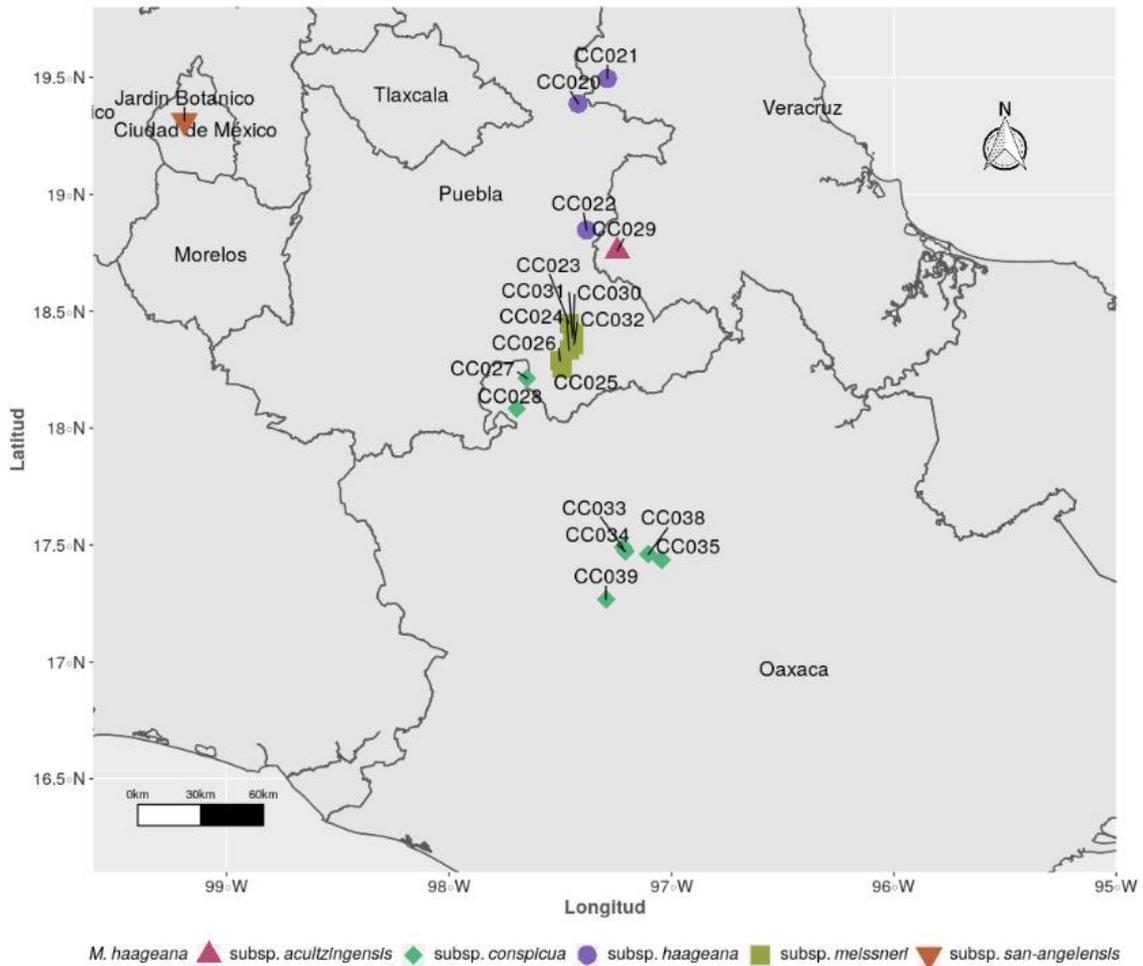


Figura 4. Mapa de sitios de colecta de material biológico de *M. haageana*. Se indica el nombre de cada accesión (Tabla 1) y la subespecie a la que pertenece de acuerdo con Guzmán y colaboradores (2003). Mapa elaborado por M. en C. Cristian Cervantes.

Tabla 1. Accesiones de *M. haageana*. Promedio anual de temperatura y precipitación de 1951 a 2010 (SMN, 2020). Entre paréntesis se mencionan los municipios más cercanos a los puntos de colecta originales que no cuentan con datos climatológicos.

Accesión	Subespecie (sensu Guzmán <i>et al.</i> , 2003)	Municipio y Estado	Altitud (msnm)	Tipo de vegetación (Arias <i>et al.</i> , 2012)	Temperatura media anual (°C)	Precipitación media anual (mm)
CC020	<i>M. haageana</i> subsp. <i>haageana</i>	Tepeyahualco, Puebla	2,393	Matorral xerófilo, rosetófilo	5.2 – 23.8	449.9
CC021	<i>M. haageana</i> subsp. <i>haageana</i>	Perote, Veracruz	2,544	Matorral xerófilo, rosetófilo	4.4 – 21	507.8
CC022	<i>M. haageana</i> subsp. <i>haageana</i>	Esperanza, Puebla	2,489	Matorral xerófilo, pastizal	5.6 – 20.1	461.2
CC023	<i>M. haageana</i> subsp. <i>meissneri</i>	Tehuacán, Puebla	1,825	Matorral xerófilo	10 – 26	464.6
CC024	<i>M. haageana</i> subsp. <i>meissneri</i>	Zapotitlán, Puebla	1,535	Matorral xerófilo, crasicaule	13 – 30	407.8
CC025	<i>M. haageana</i> subsp. <i>meissneri</i>	Zapotitlán, Puebla	1,807	Matorral xerófilo	13 – 30	407.8
CC026	<i>M. haageana</i> subsp. <i>meissneri</i>	Zapotitlán, Puebla	1,588	Matorral xerófilo	13 – 30	407.8
CC027	<i>M. haageana</i> subsp. <i>conspicua</i>	Santiago Chazumba, Oaxaca	1,987	Matorral xerófilo	13.5 – 25.7	562.2
CC028	<i>M. haageana</i> subsp. <i>conspicua</i>	San Pedro y San Pablo Tequixtepec, Oaxaca	1,935	Matorral xerófilo	12.8 – 22.9	723.1
CC029	<i>M. haageana</i> subsp. <i>acultzingensis</i>	Acultzingo, Veracruz	1,507	Matorral xerófilo	10.9 – 24.2	578.6
CC030	<i>M. haageana</i> subsp. <i>meissneri</i>	Zapotitlán, Puebla	1,777	Matorral xerófilo	13 – 30	407.8

Tabla 1 (continuación).						
CC031	<i>M. haageana</i> subsp. <i>meissneri</i>	Zapotitlán, Puebla	1,624	Matorral xerófilo	13 – 30	407.8
CC032	<i>M. haageana</i> subsp. <i>meissneri</i>	Zapotitlán, Puebla	1,637	Matorral xerófilo	13 – 30	407.8
CC033	<i>M. haageana</i> subsp. <i>conspicua</i>	Asunción Nochixtlán, Oaxaca	2,223	Matorral xerófilo	6.6 – 26	455.3
CC034	<i>M. haageana</i> subsp. <i>conspicua</i>	Asunción Nochixtlán, Oaxaca	2,284	Matorral xerófilo	6.6 – 26	455.3
CC035	<i>M. haageana</i> subsp. <i>conspicua</i>	Asunción Nochixtlán, Oaxaca	1,918	Bosque de encino	6.6 – 26	455.3
CC038	<i>M. haageana</i> subsp. <i>conspicua</i>	Santiago Huaucilla, Oaxaca	2,254	Bosque de encino	9.3 – 29.7 (San Jerónimo Sosola)	506.2 (San Jerónimo Sosola)
CC039	<i>M. haageana</i> subsp. <i>conspicua</i>	Magdalena Jaltepec, Oaxaca	2,107	Bosque de encino	9.2 – 23.8 (Jaltepec)	1228.1 (Jaltepec)

7.2.2 Germinación de semillas en condiciones *in vitro*

Para la obtención de plántulas, se sembraron semillas de 14 accesiones de *M. haageana* (Figura 5). Para realizar la mezcla de semillas fueron seleccionados de 2 a 15 frutos de entre 2 a 15 plantas de cada accesión, con un máximo de 200 semillas para cada una; con excepción de las accesiones CC020 y CC021 de las cuales se sembraron 221 y 219 semillas, respectivamente, provenientes de campo (Tabla 2).

Tabla 2. Semillas sembradas de cada accesión.			
Accesión	No. de plantas de las que se obtuvieron semillas	Origen de las semillas	Total de semillas sembradas
CC020	4	Campo	46
	4	Invernadero	175
CC021	2	Campo	19
	7	Invernadero	200
CC022	2	Invernadero	200
CC023	8	Campo	200
CC024	15	Campo	200
CC025	11	Campo	200
CC027	11	Campo	200
CC028	15	Campo	200
CC030	2	Campo	200
CC031	12	Campo	200
CC032	15	Campo	200
CC035	1	Campo	60
CC038	5	Campo	102
<i>M.h.san</i>	X	Invernadero	200

Las semillas de cada accesión fueron dispuestas en tubos Eppendorf® y se esterilizaron de la siguiente manera: se agregó 1 ml de hipoclorito de sodio comercial al 70%, las semillas se agitaron en el vórtex durante 3 minutos y se enjuagaron con agua destilada 5 veces durante 1 minuto cada uno. Posteriormente, las semillas se resuspendieron en agar al 0.1% para sembrarlas con mayor precisión y mejor adhesión a la placa. La siembra se llevó a cabo en una campana de flujo laminar vertical bajo condiciones asépticas y cerca de la llama de un mechero de Bunsen. Las semillas se sembraron en placas Petri de 12x12 cm, estériles y desechables (Cat. No. 688102, Greiner Bio-One), con 75 ml de medio Murashige y Skoog (MS) al 50% (Cat. No. MSP09-1LT, Caisson Labs), ácido 2-(N-Morfolino) etano sulfónico (sal sódica MES) al 0.05% (Cat. No. 152454, MP Biomedicals), agar al 1% (Cat. No. A1296-1KG, Sigma Life Science) y ajustado a un pH de 5.7 con un potenciómetro (Oakton, ph 700). Cuando fue necesario, el pH se ajustó con soluciones buffer. El medio de cultivo se esterilizó en autoclave (FELISA, FE-405). En total, sembraron entre 200 y 221 semillas de 14 accesiones dispuestas en cuatro o cinco placas con 50 semillas cada una. Posteriormente, las placas fueron llevadas a una incubadora (Percival Scientific, CU22L) en posición horizontal a 28°C con fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas oscuridad donde se registró la germinación cada 2 días durante 45 días. Las placas de las accesiones CC022, CC030, CC035 y CC038 presentaron contaminación por

hongo y/o plántulas insuficientes, así que fueron excluidas del siguiente experimento y sólo se continuó con el material de 10 accesiones.

7.2.3 Trasplante de plántulas a placas verticales

Para observar el desarrollo de la raíz en posición vertical, se eligieron 40 plántulas de 10 accesiones con aspecto uniforme y con una edad de entre 40 y 45 días. Las plántulas fueron trasplantadas a placas Petri de 12x12 cm con las mismas condiciones de asepsia y composición del medio de cultivo que en la germinación. En el trasplante, las plántulas fueron acomodadas en dos filas paralelas con 5 unidades cada una, teniendo cuatro réplicas de cada accesión, cada una con 10 plántulas. Fue necesario utilizar agar al 0.3% para adherir las plántulas al medio. Para seguir el crecimiento de las raíces se obtuvo una imagen digital de cada placa con un escáner (EPSON Perfection v600 Photo), con resolución de 600 dpi y en formato JPG. Se asignaron códigos a las imágenes y se agregaron a la base de datos del Laboratorio de Biología de Raíces, JB-UNAM. Las placas se llevaron a la misma incubadora a 28°C y fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas oscuridad en posición horizontal durante tres días para que se fijaran al medio. Después de ese lapso, se acomodaron las placas en posición vertical y cada semana a partir de que se hizo el trasplante, se escanearon para llevar un registro de la serie de desarrollo de las plántulas. En cada imagen se agregó una escala de 5 cm para facilitar las medidas posteriores. Se siguió el desarrollo de las raíces durante 31 semanas y las imágenes fueron clasificadas bajo los criterios ya descritos. A partir de la séptima semana, la longitud de la raíz primaria de algunas plántulas de la accesión CC024 rebasó poco más de la mitad de la placa, por lo que fueron trasplantadas a nuevas placas Petri con la misma composición del medio. Para CC024 se tenían ocho placas con cinco plántulas cada una.

Las raíces simpodiales fueron observadas con un microscopio estereoscópico (Olympus SZ61) y las fotografías fueron tomadas por una cámara digital (Olympus SC100), con el software cellSens Entry 1.18 de Olympus.

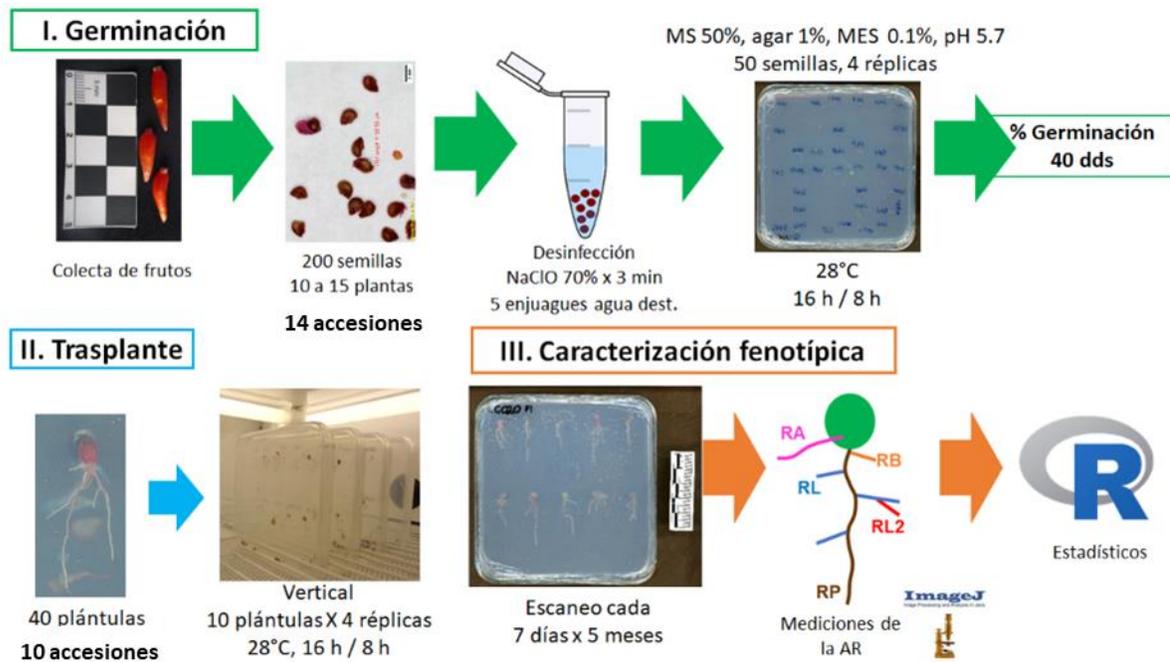


Figura 5. Esquema de los métodos seguidos en esta tesis para la caracterización fenotípica de las raíces.

7.2.4 Mediciones de las raíces

A partir de las imágenes, se tomaron en cuenta cinco etapas de desarrollo para el seguimiento de las raíces: 45, 73, 101, 129 y 157 días. Las variables elegidas fueron la longitud de la raíz principal (RP), la longitud y el número de las raíces laterales (RL y nRL), las laterales de segundo orden (RL2 y nRL2), las adventicias (RA y nRA) y las basales (RB y nRB). Además, se consideró a la suma de las longitudes de los diferentes tipos de raíces medidos como la raíz total (RT). Las mediciones de las raíces en las imágenes se hicieron con el programa Image J (v.1.52a), utilizando la escala de 5 cm para calibrar la regla. Debido a los requerimientos del script de R para la construcción de tablas de datos según lo publicado por Colchado (2019), la medición de la RP se llevó a cabo en segmentos como se muestra en la Figura 6.

Para cada accesión, se buscó tener un tamaño de muestra de 30 plántulas para las mediciones, sin embargo, se dio el caso de que algunas plántulas se despegaron en cierta etapa de desarrollo, por lo que se decidió descartarlas del tamaño de muestra final. De esta manera, sólo se consideraron las plántulas que se mantuvieron en su lugar durante todo el experimento. Las accesiones CC020, CC021, CC023, CC024, CC028, CC031 y CC032

tuvieron un tamaño de muestra de 30 plántulas; para las accesiones CC025 y CC027 el tamaño de muestra fue de 27 plántulas y para *M.h.san*, de 22 plántulas.

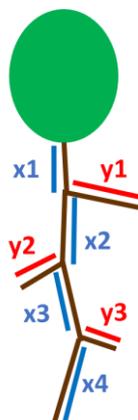


Figura 6. Orden de las mediciones de la RP y las RL. En la plántula, la primera medición de la RP se tomó a partir de la base del brote hasta la primera ramificación (x1), la segunda, a partir de la primera a la segunda ramificación (x2) y la tercera desde la segunda hasta la tercera ramificación lateral (x3). La última medida (x4) representa la distancia entre la última ramificación y la punta de la RP. Posteriormente, se midió la longitud de las RL (y1, y2, y3). Método de medición tomado de Colchado-López *et al.*, 2019.

7.2.5 Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos de las mediciones de las raíces se hicieron con el software de libre acceso R versión 3.5.2 (2018-12-20) de R Core Team (2018) en la interfaz Rstudio, versión 1.1.463. Se construyeron gráficas de caja y bigotes para visualizar la dispersión de los datos de las variables (RP, RL, nRL, RL2, nRL2, RA, nRLA, RB, nRB y RT). Se hizo la prueba de Shapiro-Wilk (*shapiro.test*) y la prueba de Levene (comando *leventest* del paquete *car*) para conocer la normalidad y homocedasticidad de las variables medidas. Ya que los datos fueron no normales y heterocedásticos, se recurrió a una prueba estadística no paramétrica de Kruskal-Wallis de una vía contando con las accesiones como factor y 10 niveles para cada variable. Se hizo una prueba por cada etapa de desarrollo (45, 73, 101, 129 y 157 días). Lo anterior se llevó a cabo con el comando *kruskal* del paquete *agricolae* y también se realizó una prueba post-hoc de comparaciones múltiples LSD de Fisher, que sirvió para reconocer los grupos estadísticamente diferentes.

8. Resultados

8.1 Observaciones sobre los hábitats y ambientes donde se encuentra *M. haageana*

De manera general, *M. haageana* crece en lugares con poca disponibilidad de suelo, abiertos y con exposición directa al sol. Está asociada a rocas o arbustos y se encuentra en lugares con grado moderado de perturbación humana. La especie se encontró en diferentes ambientes (Figura 7). Se observó variación en las tonalidades de las flores desde rosa muy intenso hasta rosa pálido y los tallos eran solitarios o ramificados (Figura 8A, E). A continuación, se describen particularidades de los sitios de colecta.

En Tepeyahualco, Puebla, lugar de origen de la accesión CC020, las plantas tenían tallos pequeños de no más de 5 cm; las plantas del resto de los sitios superaban esa talla. Se encontraron plantas creciendo entre rocas y pendientes pronunciadas hasta de 90°, fue evidente la perturbación por pastoreo ya que algunas plantas se encontraron desenterradas. Destacó la presencia de especies de los géneros *Opuntia* y *Yucca*. En Perote, Veracruz (correspondiente a CC021), se encontraron individuos de *M. haageana* sobre plantas vivas y troncos caídos de plantas de *Yucca*. En el terreno había excavaciones para captación de agua, casas y cercas delimitantes de parcelas. En Tehuacán, Puebla, sitio de CC023, destacó la presencia de *Pseudomitrocereus fulviceps* y especies de los géneros *Coryphantha*, *Acacia* y *Echinocactus*. Los individuos de *M. haageana* tenían patrones de espinación muy compactos, lo cual les confería un color blanco intenso. En las cercanías de la accesión había zonas de desmonte de vegetación por incendios. El sitio de colecta de la accesión CC024 fue el Jardín Botánico Helia Bravo en Zapotitlán, Puebla donde la población era muy abundante en los parajes del lugar. Por lo regular, la especie se encontró debajo de plantas arborescentes del género *Parkinsonia* y compartían sitio con *Mammillaria carnea*. Las plantas sobresalían en terreno abierto, presentaron tallos cilíndricos muy largos. Había individuos solitarios y con ramificaciones. Otras especies abundantes fueron *Neobuxbaumia tetetzo*, *Cephalocereus columnn-traiani* y *Mammillaria mystax*.

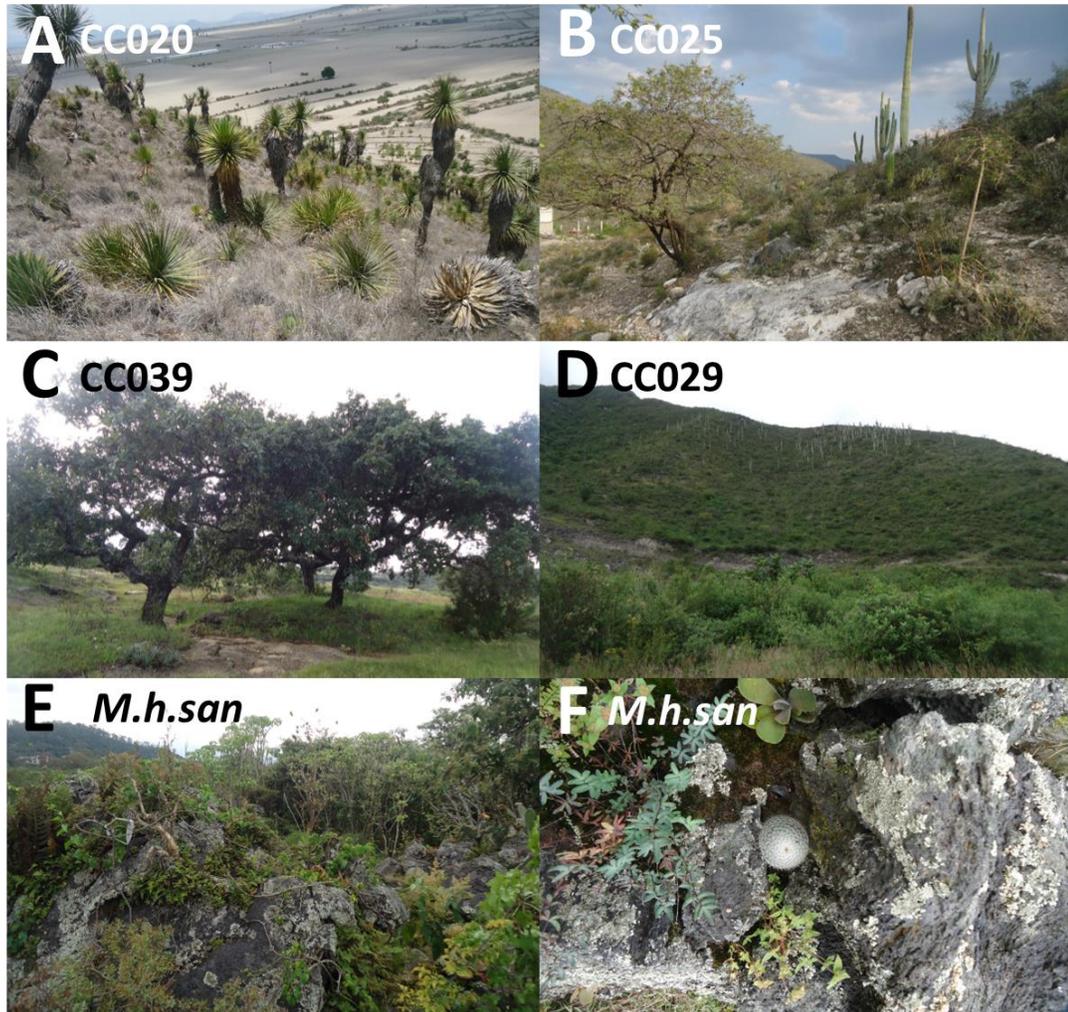


Figura 7. Ambientes donde se encuentra *M. haageana*. Se indica la accesión y la subespecie. **A.** CC020, *M. haageana* subsp. *haageana*, matorral xerófilo rosetófilo en Perote, Veracruz. **B.** CC025, subsp. *meissneri*, matorral xerófilo crasicaule en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla. **C.** CC039, subsp. *conspicua*, bosque de encino en Nochixtlán, Oaxaca. **D.** CC029, subsp. *acultzingensis*, matorral xerófilo en Acultzingo, Veracruz. **E.** subsp. *san-angelensis*, matorral xerófilo de *Pittocaulon praecox* en la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, Ciudad de México. **F.** Ejemplar de la subsp. *san-angelensis* creciendo sobre basalto. Subespecies de acuerdo con Guzmán y colaboradores (2003).

Las condiciones del sitio CC025 fueron similares a las de la accesión CC024 ya que también se ubicó en Zapotitlán, Puebla; con la excepción de la presencia de asentamientos humanos y una cantera. En Santiago Chazumba, Oaxaca, donde se colectó la accesión CC027, las especies predominantes fueron *E. platyacanthus*, *Neobuxbaumia mezcalaensis* y plantas del género *Acacia*. En este sitio se observaron las raíces más largas de las plantas colectadas (de 65 hasta 110 cm). Las raíces eran rastreras y las plantas eran solitarias y se encontraban muy

separadas unas de otras. Sobresalieron los cuerpos rocosos blancos y expuestos a intemperismo, en los que también había plantas de *M. haageana*. El lugar origen de la accesión CC028 fue San Pedro y San Pablo Tequixtepec, Oaxaca, donde las plantas de *M. haageana* crecían al margen de la carretera y en un cerro que estaba más alejado de la misma. En el cerro, las plantas eran poco abundantes en la base a comparación de la parte media, la cual se caracterizó por el suelo expuesto de color blanco. En este lugar, *M. haageana* crecía sobre suelo calcáreo que se rompía fácilmente, en contraste con otros sitios, en los que la especie se encontró en suelos de roca dura. Destacó la presencia de *Stenocereus pruinosus* y plantas de *Acacia*. Durante la búsqueda de *M. haageana* subsp. *acultzingensis* en Acultzingo, Veracruz, algunos de los puntos previamente reportados ya no se encontraron, y en su lugar había campos de cultivo, desmonte de la vegetación y casas. La única población correspondiente a la subespecie que se halló (accesión CC029), estaba aislada en la pendiente de un cerro y la presencia de individuos era muy baja. Al pie del cerro destacó la presencia de vías de tren con tránsito regular. En Zapotitlán, Puebla se colectó la accesión CC031, en el lugar se encontraron individuos ramificados en las pendientes de los caminos junto a la carretera, condiciones similares a CC032, accesión que estaba cerca de una mina de mármol y ónix. Los habitantes mencionaron que han observado saqueo de material. La accesión CC034, originaria de Nochixtlán, Oaxaca y perteneciente a *M. haageana* subsp. *conspicua* estaba ubicada en un basurero a lado de un camino de terracería. Los individuos se encontraban cubiertos por los desechos de las casas cercanas, aun así, las plantas tenían un buen tamaño y había una gran densidad de individuos en floración. Destacó CC035, que fue colectada en Asunción Nochixtlán, Oaxaca ya que se encontró en un bosque de encino; se encontraron individuos globosos y solitarios creciendo entre rocas, hojarasca de encino y helechos. El suelo era húmedo y de color negro intenso a comparación del resto de localidades, cuyos suelos abarcaron tonos grises y cafés además de ser secos. En Magdalena Jaltepec, Oaxaca, correspondiente a CC039, se encontraron individuos en floración, pero no en fructificación.

Para el caso de *M. haageana* subsp. *san-agelensis*, se llevó a cabo un recorrido en la REPSA en una población reintroducida. Las plantas contaban con etiqueta de identificación y crecían sobre formaciones de basalto en lugares expuestos directamente al sol y en condiciones de poco suelo. Fue notable la ausencia de algunos ejemplares y sólo se encontraba la etiqueta, lo cual da indicios de depredación o posible saqueo.

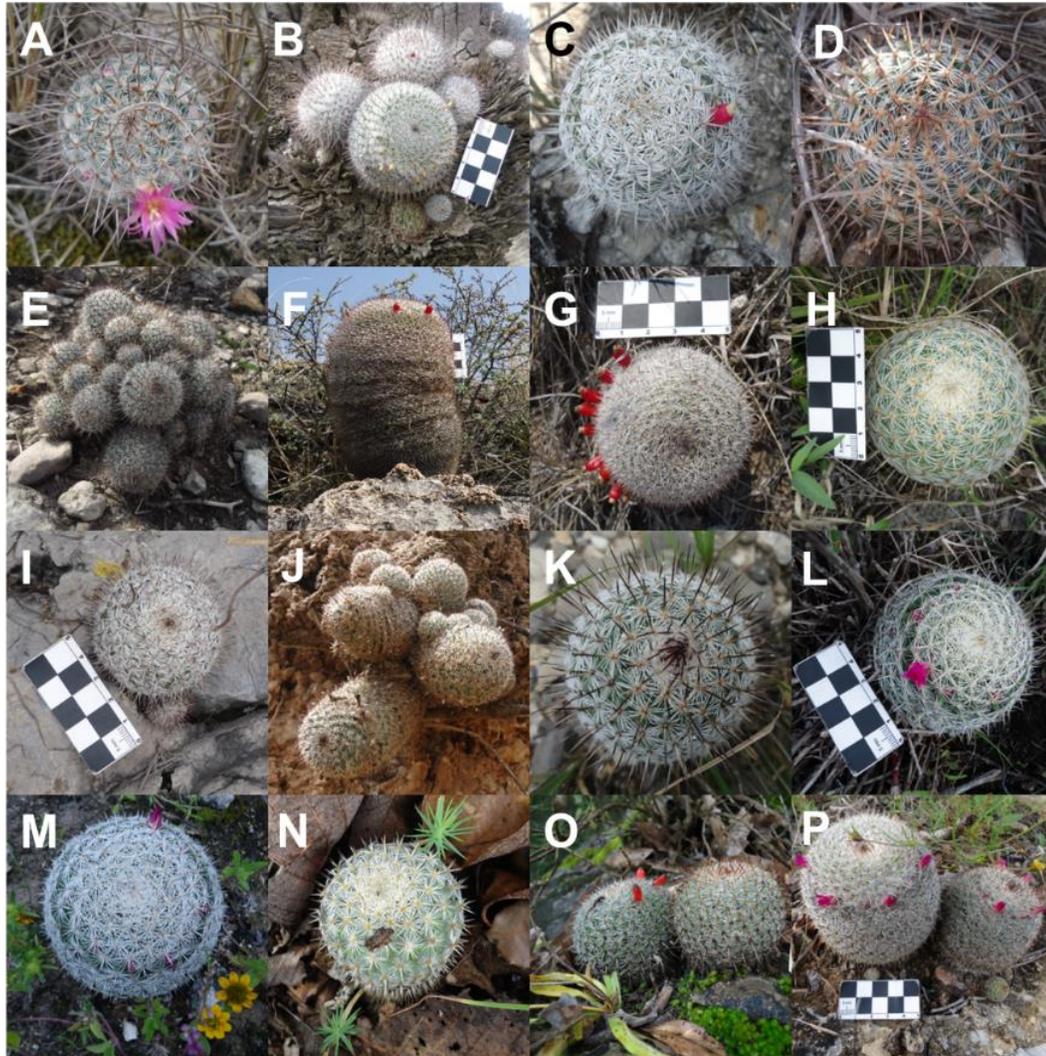


Figura 8. Plantas de *M. haageana* de los sitios donde se llevaron a cabo las colectas. Se indican las accesiones y subespecies correspondientes: **A y B. *M. haageana* subsp. *haageana* (CC020 y CC021). **C, D, E, I, J, y K.** subsp. *meissneri* (CC022, CC023, CC024, CC030, CC031, CC032 y CC033). **F, G, L, M, N, O y P.** subsp. *conspicua* (CC027, CC028, CC033, CC034, CC035, CC038 y CC039). **H.** subsp. *acultzingensis* (CC029). Subespecies de acuerdo con Guzmán *et al.* (2003).**

8.2 Germinación

Como observación adicional, se obtuvo el porcentaje de germinación (hasta 40 días después de la siembra) para cada accesión, calculado según el número de semillas sembradas *in vitro* (Tabla 2). En general, con los protocolos de desinfección que se emplearon, se encontraron porcentajes de germinación desde 2% hasta poco más del 80% (Tabla 3).

Tabla 3. Porcentajes de germinación de las semillas de cada accesión. Se indica la subespecie a la que pertenecen. El índice se calculó hasta 40 días después de la siembra. Las accesiones con asterisco presentaron contaminación con hongo en al menos una de las réplicas.

Accesión	Porcentaje de germinación (%)
CC020	54.34
CC021	84.47
CC022*	62.5
CC023	38
CC024	63
CC025	43.5
CC027	58
CC028	40.5
CC030*	38.5
CC031*	65
CC032*	77
CC035*	65
CC038	2
<i>M.h.san</i>	57.5

De las 14 accesiones sembradas, se excluyeron para la caracterización fenotípica de las raíces, a CC022 y CC030 por presentar contaminación por hongo, a CC038 por no contar con suficientes plántulas y a CC035 por ambas razones. La accesión CC035 tiene vegetación de tipo bosque de pino y encino y las semillas se contaminaron de manera consistente, indicando probablemente que hay un hongo asociado a la semilla. Las accesiones CC031 y CC032 presentaron placas contaminadas por hongo, pero solo en dos de las cuatro placas sembradas.

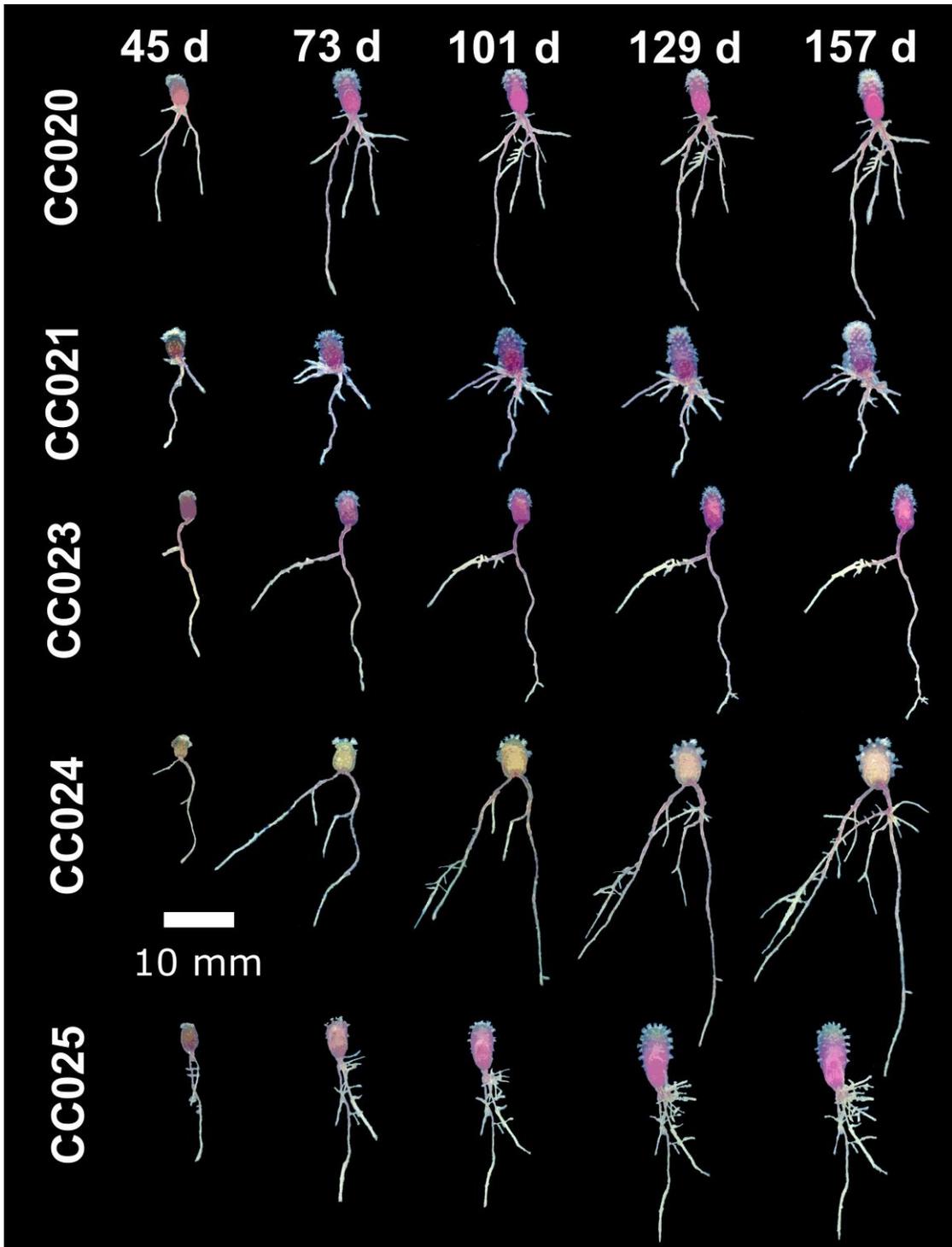


Figura 9. Series de crecimiento de plántulas de diez accesiones de *M. haageana* durante cinco etapas de desarrollo (45, 73, 101, 129 y 157 d). Se indica la subespecie correspondiente a cada accesión: **CC020** y **CC021**, *M. haageana* subsp. *haageana*. **CC023**, **CC024** y **CC025**, subsp. *meissneri*.

8.3 Caracterización fenotípica de las raíces

Para caracterizar las raíces de plántulas de *M. haageana* se eligieron semillas de 10 accesiones que se sembraron en placas verticales en condiciones *in vitro*. Las placas se escanearon durante 31 semanas y se eligieron cinco etapas de desarrollo para la descripción cualitativa y cuantitativa, las cuales fueron a los 45, 73, 101, 129 y 157 días de edad.

8.3.1 Caracterización cualitativa

De manera general, se observó un crecimiento progresivo de las raíces de las plántulas a lo largo de las cinco etapas de desarrollo (45, 73, 101, 129 y 157 días). Todas las accesiones presentaron RP, RL, RL2, RA y RB; a excepción de CC023 y *M.h.san* en las que las RB estuvieron ausentes en las cinco etapas. Es interesante recalcar que este carácter es poco común ya que, a pesar de que se observó en el resto de las accesiones, tendió a presentarse en menos de seis plántulas. Las plántulas presentaron coloración rojiza y fue notable la diversidad de formas de las raíces entre las accesiones (Figuras 9 y 10).

Por ejemplo, en la Figura 9 se observa que la plántula de la accesión CC023 solamente tiene una RL mientras que las plántulas de CC020 y CC024 tienen más RA que están ramificadas. En CC025, las RA tienden a crecer muy cerca de la base de la RP y empiezan a ramificarse formando cúmulos, como se observa en el día 157.

Las RL2 crecieron sobre las RL y las RA, en ocasiones tendieron a formar una roseta de raíces cortas. Un caso particular, fue el de CC024, accesión en la que, a partir de la séptima semana, la longitud de la RP de algunas plántulas rebasó poco más de la mitad de la placa (más de 7 cm), motivo por el que fueron trasplantadas a nuevas placas Petri separándolas en cinco plántulas por placa. Lo anterior con la intención de observar qué tanto podían crecer. Para la misma accesión, en la semana 13, se observó el crecimiento de ramificaciones en la parte del brote de una plántula, característica particular de la subespecie *M. haageana* subsp. *meissneri* a la que pertenece CC024. Es decir, las plantas adultas de la accesión CC024 tienen hábito de crecimiento ramificado, con múltiples ramas en cada organismo (Fig.7E). En la semana 30, la plántula de CC024 tenía 2 ramificaciones (imágenes no mostradas).

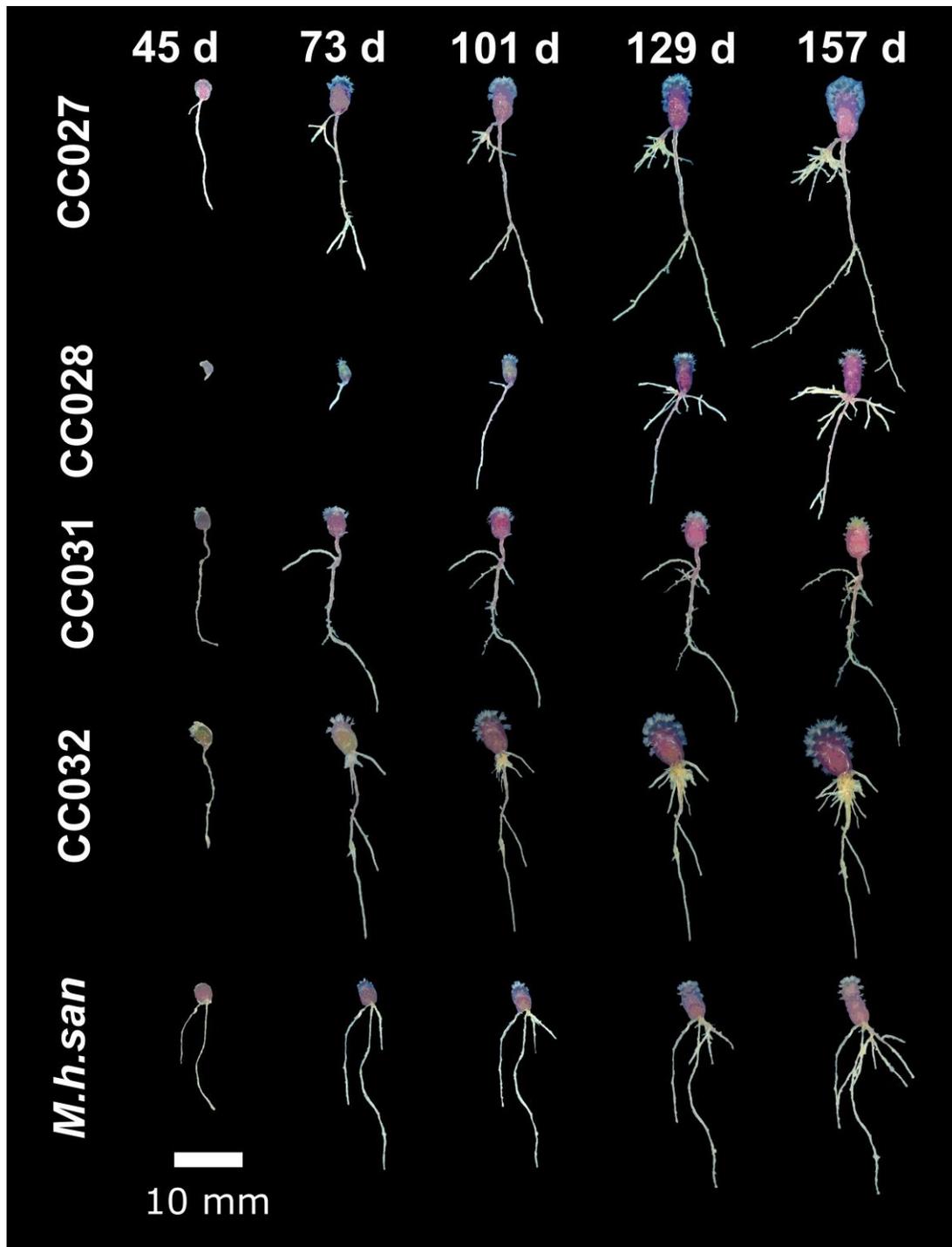


Figura 10. Series de crecimiento de plántulas de diez accesiones de *M. haageana* durante cinco etapas de desarrollo (45, 73, 101, 129 y 157 d). Se indica la subespecie correspondiente a cada accesión: **CC027 y CC028**, *M. haageana* subsp. *conspicua*. **CC030, CC031 y CC032**, subsp. *meissneri*. ***M.h.san***, subsp. *san-angelensis*.

Las plántulas de la accesión CC028 se caracterizaron por tener RP muy cortas en los días 45 y 73, como se observa en la Figura 10, a comparación del resto de las accesiones, en las que las raíces eran más grandes en las mismas etapas. En *M.h.san*, se observaron plántulas con RP muy cortas y otras con brotes albinos, cuyo crecimiento estuvo estancado en las cinco etapas de desarrollo. Para la caracterización cuantitativa sólo se tomaron en cuenta los individuos con raíces bien desarrolladas. El fenotipo de raíces atrofiadas podría atribuirse al origen de las semillas, las cuales fueron obtenidas del Centro de Adopción de Plantas Mexicanas en Peligro de Extinción del Jardín Botánico, IB-UNAM, y generadas de un pool genético restringido.

Otra observación interesante se presentó en las accesiones CC025, CC027 y CC031 donde algunas plántulas tuvieron engrosamiento de la RP, el cual fue más evidente en la unión con el tallo. Las mismas plántulas se despegaron de la placa por su propio peso. En una plántula de la accesión CC027, la cual presentó engrosamiento de la RP, fue posible identificar que a partir del día 101, la longitud de este tipo de raíz disminuyó y esto continuó en las dos siguientes etapas de desarrollo. Lo anterior se explica por la presencia de un fenómeno parecido al engullimiento de la RP por el brote (Figura 11). La palabra engullimiento no es un término botánico y sólo hace referencia a que la base del tallo de la plántula envuelve la unión de la RP con el tallo, lo cual provoca que una pequeña parte de la RP quede dentro del brote y, por lo tanto, en las mediciones se observó un aparente decrecimiento en la longitud de la RP. Las plántulas que presentaron engrosamiento y el fenómeno de engullimiento fueron excluidas del tamaño de muestra final para las accesiones CC025 y CC027.

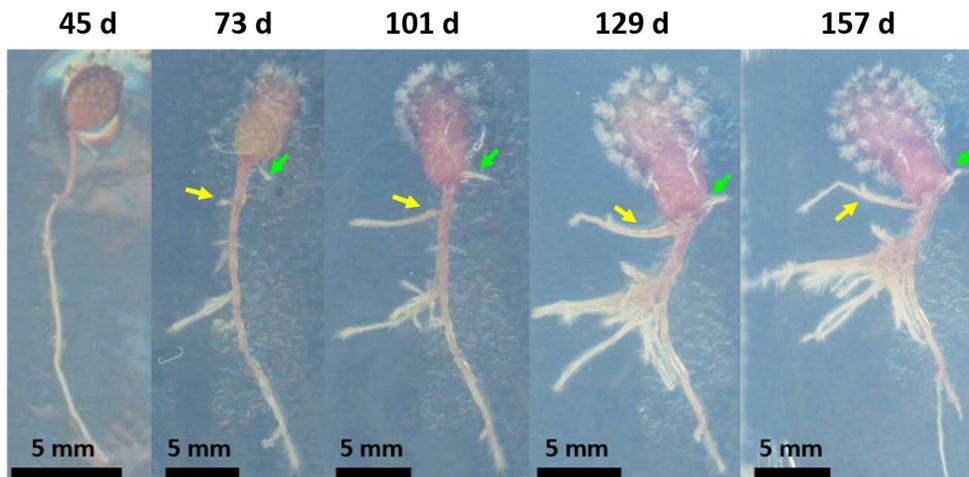


Figura 11. Engullimiento de la RP por el brote. Plántula de la accesión CC027. El brote se contrajo y envolvió parte de la RP a partir del día 101. Se indican RL (flecha amarilla) y RA (flecha verde).

Se encontró que, para todas las accesiones, pero más notable en CC031 y CC032, el crecimiento de las raíces es de forma simpodial y en segmentos. Las raíces simpodiales ya han sido descritas para cactáceas por Booke (1979), Dubrovsky (1997a y 1997b) y Shishkova y colaboradores (2013). En el caso de la RP, a los pocos días de la germinación, el meristemo de la raíz primaria se agota y se forma un apéndice en forma de bráctea como remanente del ápice, el cual presenta crecimiento de pelos radicales. De manera subapical, crece otra raíz a partir de una nueva zona meristemática (Figura 12A, B). La raíz se elonga y se vuelve a determinar, lo cual genera un crecimiento de la raíz en segmentos (Figura 12C).

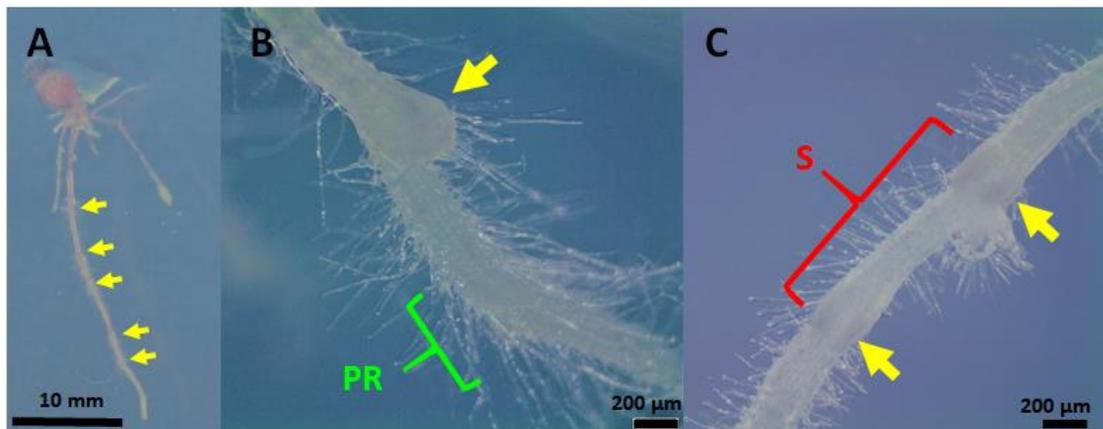


Figura 12. Raíces simpodiales en *M. haageana*. Plántula de la accesión CC020. A. Se observan apéndices en forma de brácteas a lo largo de la RP (flechas amarillas). B. El apéndice en forma de bráctea es un remanente del meristemo agotado de la RP, y se observan pelos radicales (PR, color verde). De manera subapical, crece una nueva raíz. C. Segmento entre apéndices (S, color rojo).

8.3.2 Caracterización cualitativa

Con respecto al análisis cuantitativo, las mediciones fueron resumidas en gráficas de caja y bigotes en las que se observó variación dentro y entre y accesiones y por etapas de desarrollo para los diferentes tipos de raíces. A continuación, se describe cada variable.

- **Longitud de la raíz principal**

En la Figura 13 se muestran las gráficas de la longitud de la RP de las plántulas de todas las accesiones en respuesta a la edad. En el día 45, fue notable que las dinámicas de crecimiento de la RP de las accesiones partieron de un patrón de variación de los datos muy similar y se observó que, de manera general, el desarrollo de este carácter tendió a ir en aumento en las primeras tres etapas de desarrollo. Por otra parte, es notable que el crecimiento empieza a estacionarse en las últimas dos etapas, en los días 129 y 157; lo anterior coincide con el desarrollo de los otros tipos de raíces.

Como ejemplo de las diferencias en la variación de los datos, se puede observar que la longitud de la RP de CC023 y *M.h.san* tuvieron un patrón de variación más amplio en las cinco etapas en contraste con CC020 y CC027, cuyas distribuciones fueron más compactas, Destacó la accesión CC024 porque presentó los valores atípicos más altos con plántulas que alcanzaron una longitud de más de 60 mm en la última etapa a la que se dio seguimiento. Este es un caso particular, ya que, en el resto de las accesiones, el crecimiento de la RP parece estacionarse, pero en CC024 tiende a ser más larga.

Una prueba de Kruskal Wallis (Anexo 3, longitud de la RP) demostró que hay diferencias significativas en la longitud de la RP dentro de las accesiones en el día 45 $H(2)=86.75$, $p<0.001$. Se encontró que CC020 tuvo el rango más alto pero es similar a CC032. La accesión CC028 presentó el rango más bajo y fue diferente al resto. En el día 101, las accesiones presentaron diferencias significativas $H(2)=24.04$, $p<0.004$, el de rango más alto fue CC023 y presentó similitudes con CC032. La accesión CC028 presentó el rango más bajo, pero esta vez no tuvo diferencias significativas con el resto de las accesiones a excepción de CC023. En el día 157 se encontraron diferencias significativas $H(2)=29.17$, $p<0.0006$. El rango más alto correspondió a CC023 y tuvo similitud con CC024 mientras que el más bajo fue CC028.

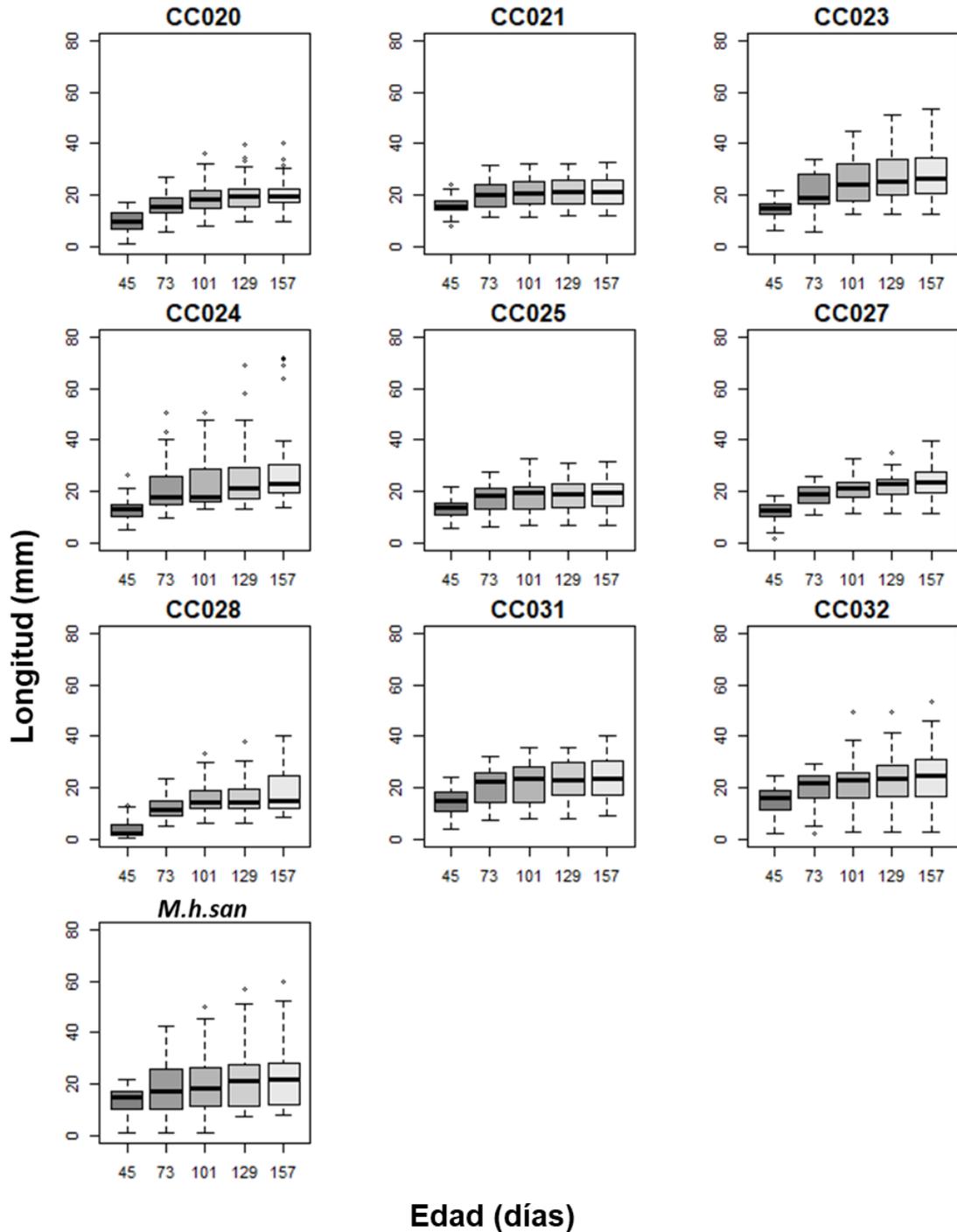


Figura 13. Se presenta la longitud de la raíz principal (mm) de plántulas de *M. haageana* en respuesta a la edad (días). Las cinco etapas de desarrollo se cuantificaron a los 45, 73, 101, 129 y 157 días. Se indica la subespecie correspondiente a cada accesión: **CC020 y CC021**, *M. haageana* subsp. *haageana*. **CC023, CC024, CC025, CC031 y CC032**, subsp. *meissneri*. **CC027 y CC028**, subsp. *conspicua*. ***M.h.san***, subsp. *san-angelensis*. Se muestran medianas (barras horizontales dentro de las cajas), cuartiles del 25 y 75% (bigotes inferior y superior) y datos atípicos (puntos).

- **Longitud de las raíces laterales**

En la Figura 14 se muestran las gráficas de la longitud de las RL de las plántulas de todas las accesiones en respuesta a la edad. En el día 45 no se observaron RL en la mayoría de las plántulas de casi todas las accesiones, lo cual se identificó por el colapso de la caja y los bigotes aunado a la ubicación de la mediana en cero. Las únicas excepciones fueron las accesiones CC024 y CC032, en las que la variación del 50% superior a partir de la mediana, comenzó a expandirse en el día 45, indicando que, en la mitad de las plántulas, las raíces laterales empezaron a crecer desde un inicio. En la accesión CC021 el 50% de las plántulas no presentaron RL en las dos primeras etapas y fue hasta el día 101 cuando empezaron a proliferar, mientras que, en el resto de las accesiones, las RL crecieron a partir del día 73.

Un caso particular fue la dinámica de crecimiento de la accesión *M.h.san* ya que, en las cinco etapas, la mediana se mantuvo en cero, lo que significa que el 50% de las plántulas no presentaron RL. Para las RL, se identificaron patrones de variación muy compactos como CC020 y *M.h.san* a comparación de CC028, CC031 y CC032. En la accesión CC032, una plántula tuvo una RA que sobrepasó los 80 mm de longitud.

Se encontraron diferencias significativas entre las accesiones en el día 45 $H(2)=35.017$, $p<0.001$, CC024 tuvo el rango más alto pero no fue diferente de CC032 y CC021. El valor más bajo lo presentó CC028, y no tuvo diferencias significativas con CC027. También se identificaron diferencias en el día 101 ($H(2)=35.017$, $p<0.001$), CC031 tuvo el rango más alto sin embargo no fue significativamente diferente de CC032, *M.h.san* presentó el rango menor y no fue diferente de CC025. Las diferencias persistieron hasta el día 157 ($H(2)=50.02$, $p<0.001$) donde CC032 presentó el rango más alto, el cual no fue significativamente diferente de CC024 y CC031. En contraste, los rangos más bajos los presentaron CC020, CC025 y *M.h.san*, los cuales no son significativamente distintos (Anexo 3, longitud de las RL).

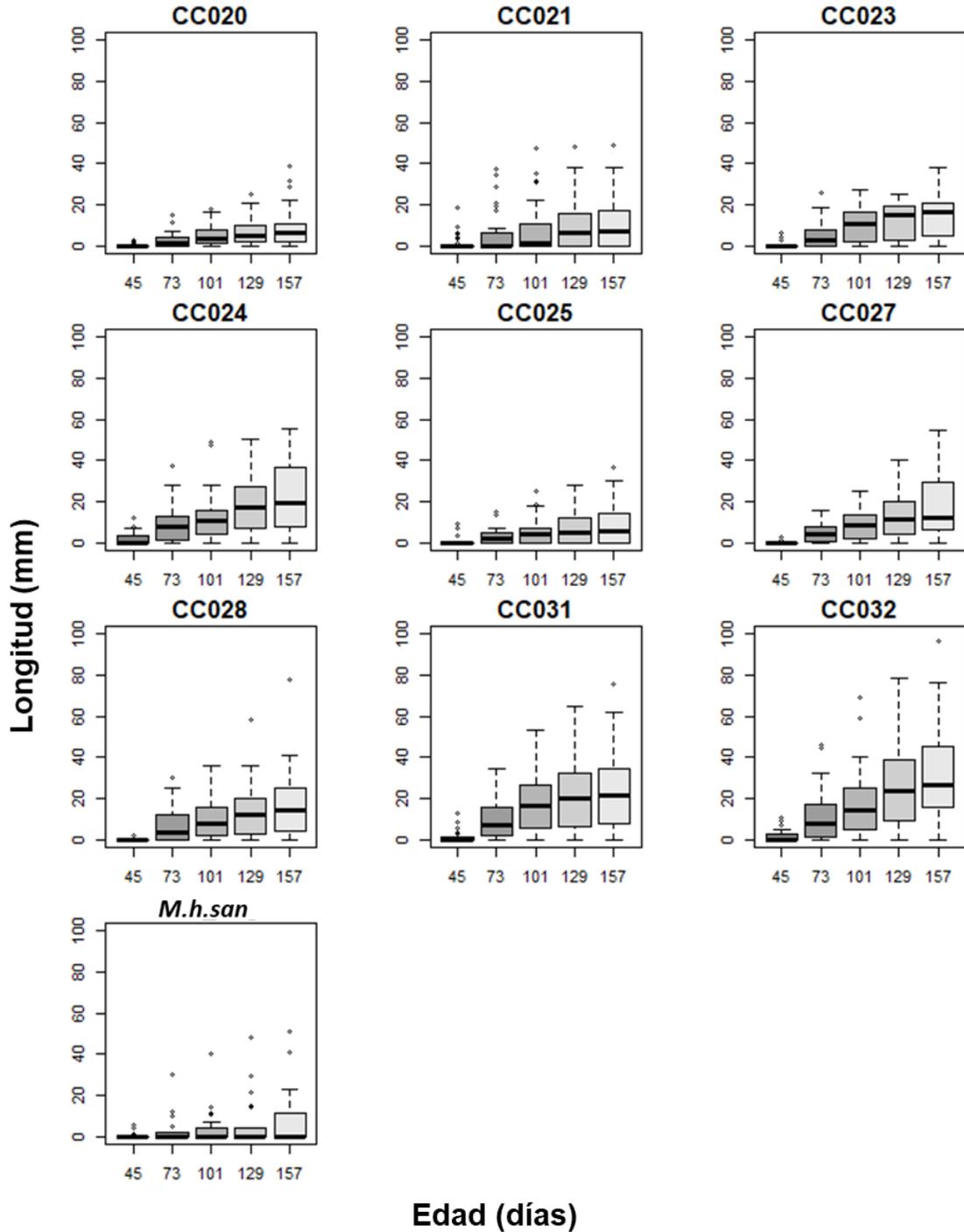


Figura 14. Se presenta la longitud de las raíces laterales (mm) de plántulas de *M. haageana* en respuesta a la edad (días). Las cinco etapas de desarrollo se cuantificaron a los 45, 73, 101, 129 y 157 días. Se indica la subespecie correspondiente a cada accesión: **CC020 y CC021**, *M. haageana* subsp. *haageana*. **CC023, CC024, CC025, CC031 y CC032**, subsp. *meissneri*. **CC027 y CC028**, subsp. *conspicua*. **M.h.san**, subsp. *san-angelensis*. Se muestran medianas (barras horizontales dentro de las cajas), cuartiles del 25 y 75% (bigotes inferior y superior) y datos atípicos (puntos).

- **Número de raíces laterales**

El nRL de las plántulas de las diez accesiones en cada etapa de desarrollo se observa en la Figura 15. Se observó que en el día 45 la mediana de todas las accesiones estuvo en cero, lo que significa que casi el 100% de las plántulas no presentaron RL en esta etapa, a excepción de CC024, CC031 y CC032, accesiones donde el nRL empezó a proliferar de manera temprana. Las plántulas de la accesión CC025 se mantuvieron estables en el nRL desde el día 101 hasta el 157. El nRB aumentó a partir del día 73 para el resto de las accesiones, el máximo nRL lo presentaron plántulas de CC032 con 20 raíces mientras que *M.h.san* se mantuvo con la mediana en cero durante las cinco etapas de desarrollo, algunas plántulas tuvieron poco más de cinco RL.

Se encontraron diferencias significativas entre las accesiones en el día 45 $H(2)=35.08$, $p<0.001$, el rango más alto lo presentó CC024 sin embargo no fue estadísticamente diferente de CC032 Y CC031, el rango más bajo lo presentó CC028, el cual no tuvo diferencias con CC027. En el día 101 persistieron las diferencias ($H(2)=33.93$, $p<0.001$) donde CC031 presentó el rango más alto aunque no fue diferente de CC032, CC024, CC028 y CC027. En contraparte, el rango más bajo fue de *M.h.san*, que presentó diferencias significativas con el resto de las accesiones a excepción de CC021 y CC025. En el día 157 se encontraron fuertes diferencias significativas entre las accesiones, $H(2)=46.87$, $p<0.001$, destacó CC032 que a pesar de tener el rango más alto, no fue diferente de CC024, CC031 y CC028. El rango más bajo lo mantuvo *M.h.san* y no tuvo diferencias con CC023, CC021 y CC025 (Anexo 3, nRL).

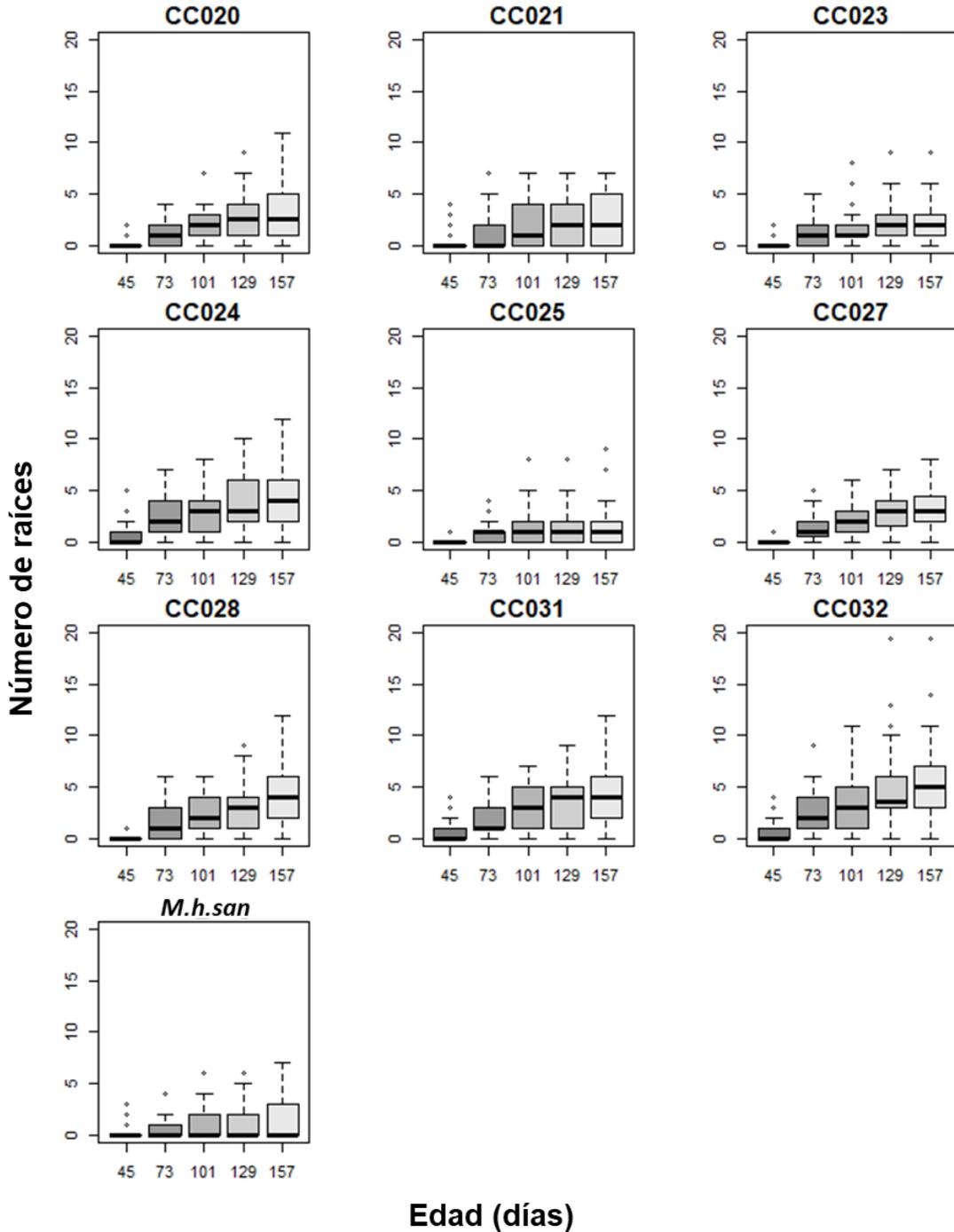


Figura 15. Se presenta el número de raíces laterales de plántulas de *M. haageana* en respuesta a la edad (días). Las cinco etapas de desarrollo se cuantificaron a los 45, 73, 101, 129 y 157 días. Se indica la subespecie correspondiente a cada accesión: **CC020 y CC021**, *M. haageana* subsp. *haageana*. **CC023, CC024, CC025, CC031 y CC032**, subsp. *meissneri*. **CC027 y CC028**, subsp. *conspicua*. **M.h.san**, subsp. *san-angelensis*. Se muestran medianas (barras horizontales dentro de las cajas), cuartiles del 25 y 75% (bigotes inferior y superior) y datos atípicos (puntos).

- **Longitud de las raíces laterales de segundo orden**

En la Figura 16 se muestran las gráficas de la longitud de las RL2 de las plántulas de todas las accesiones en respuesta a la edad. Fue notable que este tipo de raíces estuvieron ausentes en el 50% de las plántulas de las accesiones y en todas las etapas; a excepción de CC023 en el día 157, y CC032 en los días 129 y 157 en los que se observó mayor variación en la presencia y longitud de este tipo de raíces. Las RL2 proliferaron de manera más evidente a partir del día 101, lo cual pudo deberse a que este tipo de raíces crecen a partir de RL, las cuales aparecieron a partir del día 73. En las plántulas de *M.h.san*, las RL2 aparecieron en el día 157. Sólo dos plántulas de las accesiones CC020 y *M.h.san* presentaron RL2. En CC025, se observaron valores atípicos que sobrepasaron los 50 mm de longitud en las últimas dos etapas e incluso la RL2 de una plántula superó los 100 mm de longitud. La mayor longitud de una RL2 se observó en una plántula de CC023 con más de 150 mm.

Para todas las accesiones, las plántulas no presentaron este tipo de raíces en la primera etapa así que la prueba de Kruskal Wallis se calculó a partir del día 73, en el que se encontraron diferencias significativas entre la longitud de este carácter con $H(2)=16.76$, $p<0.05$. A pesar de que CC032 tuvo el rango más alto no presentó diferencias significativas con CC025 pero sí con CC023, CC028, CC020, CC021 y *M.h.san*, siendo esta última la de menor rango. En el día 101 también se encontraron diferencias en la longitud de las RL2 de las accesiones ($H(2)=29.17$, $p<0.001$). El rango más alto lo presentó CC032 pero fue similar a CC031, no hubo diferencias significativas entre ellas pero sí con el resto de las accesiones donde *M.h.san* tuvo el rango más bajo. En la última etapa de desarrollo también existieron diferencias, $H(2)=34.27$, $p<0.001$). El valor más alto lo mantuvo CC032 que no fue diferente de CC023 pero sí a comparación de *M.h.san*, la de menor rango, junto con CC021 y CC020 (Anexo 3, longitud de las RL2).

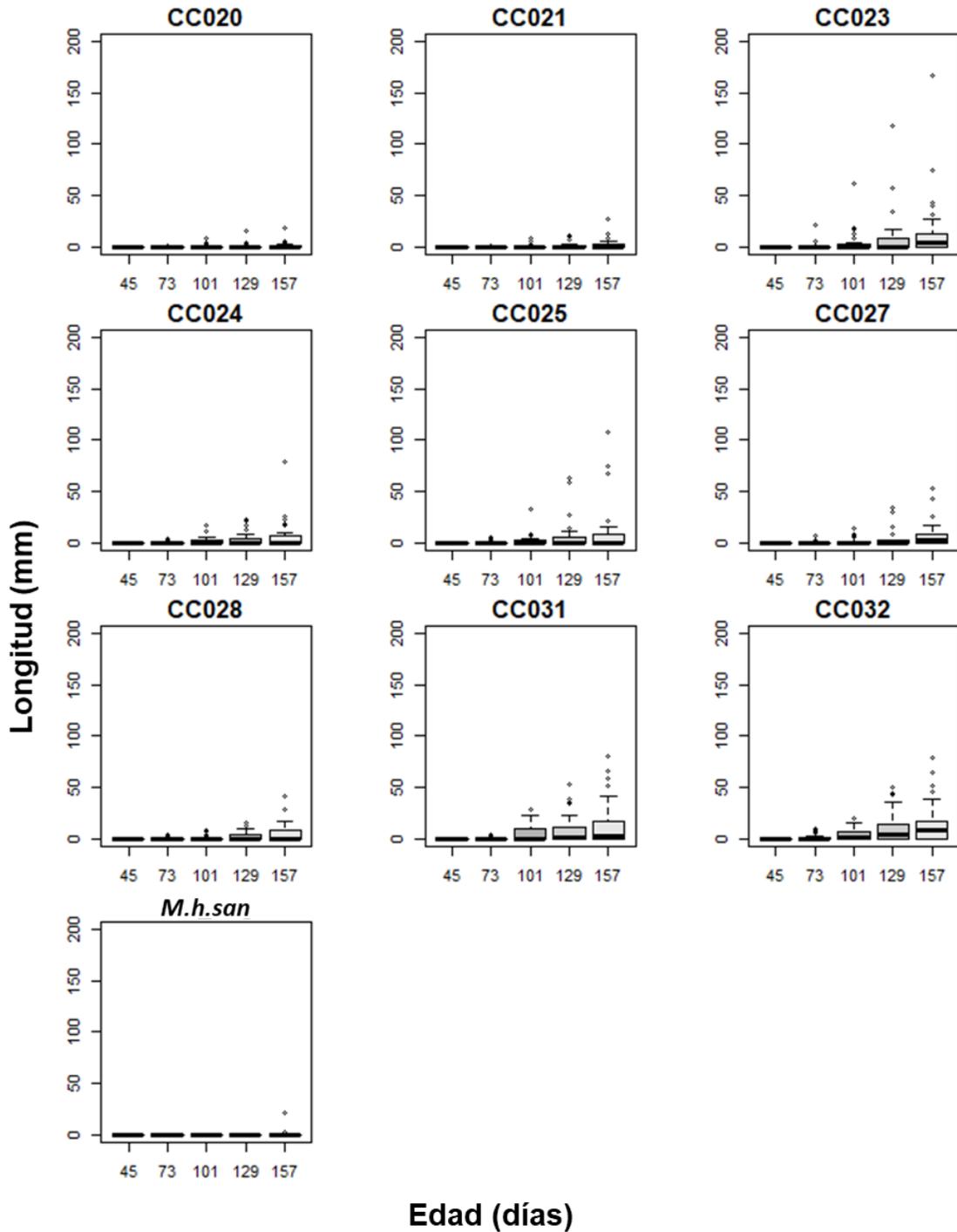


Figura 16. Se presenta la longitud de las raíces laterales de segundo orden (mm) de plántulas de *M. haageana* en respuesta a la edad (días). Las cinco etapas de desarrollo se cuantificaron a los 45, 73, 101, 129 y 157 días. Se indica la subespecie correspondiente a cada accesión: **CC020 y CC021**, *M. haageana* subsp. *haageana*. **CC023, CC024, CC025, CC031 y CC032**, subsp. *meissneri*. **CC027 y CC028**, subsp. *conspicua*. ***M.h.san***, subsp. *san-angelensis*. Se muestran medianas (barras horizontales dentro de las cajas), cuartiles del 25 y 75% (bigotes inferior y superior) y datos atípicos (puntos).

- **Número de raíces laterales de segundo orden**

El nRL2 de las plántulas de las diez accesiones en cada etapa de desarrollo se observa en la Figura 17. En todas las accesiones, no se observaron RL2 en al menos el 50% de las plántulas durante los días 45, 73 y 101. El nRL2 aumentó a partir del día 101 a excepción de *M.h.san*, donde aparecieron de manera tardía en el día 157. Los registros de mayor número de raíces se observaron en CC023, CC024 y CC031 con valores representados como atípicos (Fig. 25C, D, H). Una plántula de la accesión CC032 tuvo el mayor nRL2 con 30 raíces en el día 157. A diferencia del nRL, el nRL2 es menos variable entre accesiones (Fig. 23 y 25).

En el día 73 no se encontraron diferencias significativas en el nRL2 ($H(2)=16.57$, $p=0.055$), lo cual puede estar explicado porque es un estadio muy temprano de desarrollo para la emergencia de este tipo de raíces. A pesar de que obtuvo un valor de p ligeramente mayor que 0.05, se observó la agrupación de algunas accesiones entre sí. La de rango más alto fue CC032, que no tuvo diferencias con CC025, pero sí con *M.h.san* que fue la de menor rango y es significativamente diferente del resto. Las diferencias son más evidentes a partir del día 101 con $H(2)=28.46$, $p<0.001$. CC032 conservó el rango más alto seguido de CC031 con la que no tuvo diferencias significativas, pero sí con *M.h.san*, que fue la de menor rango, pero similar a CC020 y CC021. En la última etapa de desarrollo, el día 157, se encontraron fuertes diferencias significativas $H(2)=32.62$, $p<0.001$. Las accesiones con mayor rango fueron CC032, CC031, CC027 y CC023 sin embargo no fueron diferentes entre sí, pero sí a comparación de *M.h.san*. El resto de las accesiones tuvieron similitudes entre sí (Anexo 3, nRL2).

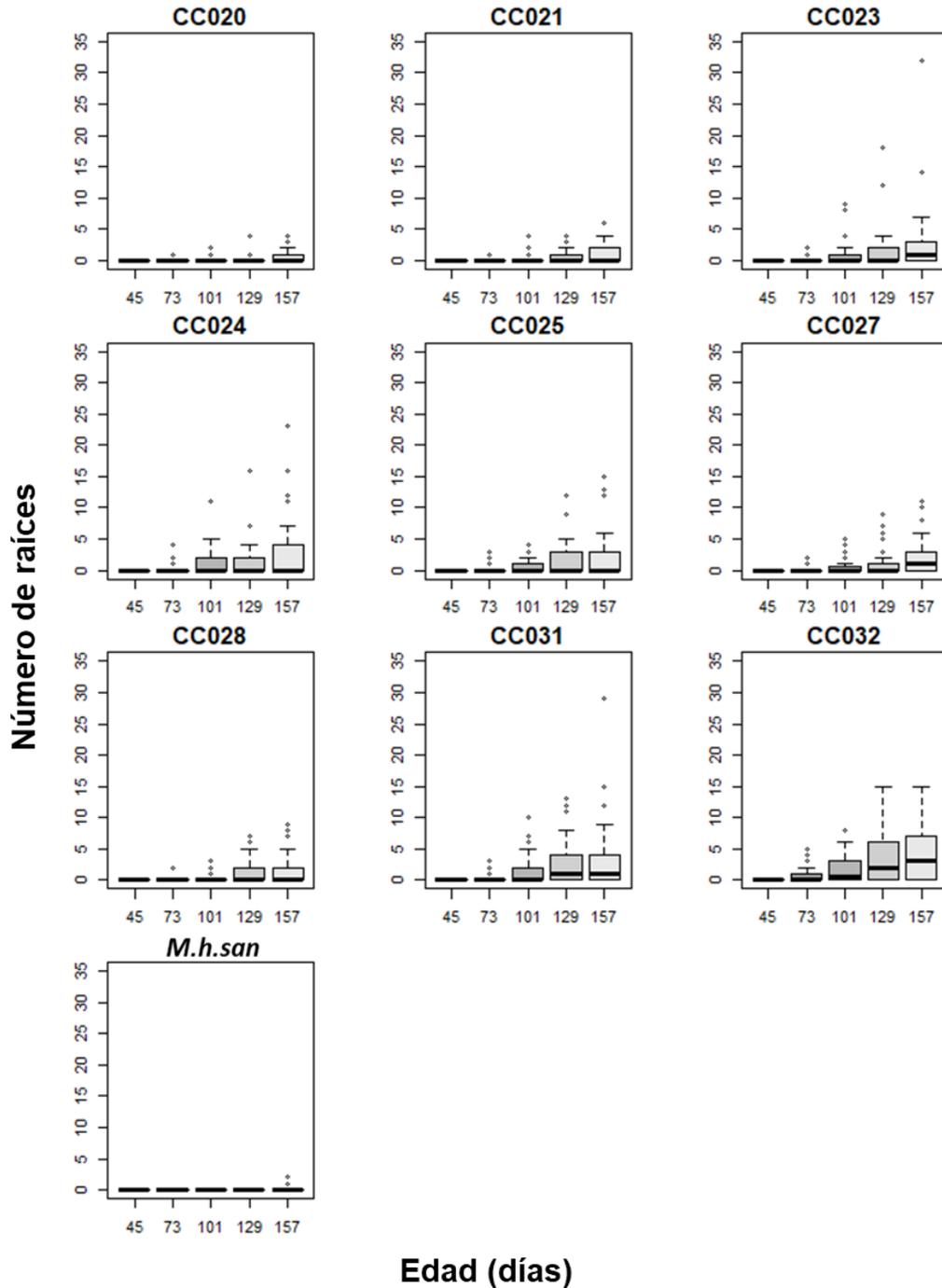


Figura 17. Se presenta el número de raíces laterales de segundo orden de plántulas de *M. haageana* en respuesta a la edad (días). Las cinco etapas de desarrollo se cuantificaron a los 45, 73, 101, 129 y 157 días. Se indica la subespecie correspondiente a cada accesión: **CC020** y **CC021**, *M. haageana* subsp. *haageana*. **CC023**, **CC024**, **CC025**, **CC031** y **CC032**, subsp. *meissneri*. **CC027** y **CC028**, subsp. *conspicua*. **M.h.san**, subsp. *san-angelensis*. Se muestran medianas (barras horizontales dentro de las cajas), cuartiles del 25 y 75% (bigotes inferior y superior) y datos atípicos (puntos).

- **Longitud de las raíces adventicias**

En la Figura 18 se muestran las gráficas de la longitud de las RA de las plántulas de todas las accesiones en respuesta a la edad. En el día 45, la longitud de las RA se mantuvo mayormente en cero, fue a partir del día 73 que se observó un aumento progresivo que perduró hasta el día 157. Las accesiones CC024 y CC032 tuvieron RA con más de 100 mm de longitud, representadas en el bigote superior. En el sitio CC024, se observó un valor atípico de más de 200 mm para una RA. La proliferación de las RA y RL coincidieron en el día 73. Por otra parte, la longitud de las RA contrastó con la RP en los días 129 y 157 ya que, en estas etapas la RP se detiene, aparentemente, mientras que las RA continuaron creciendo (Fig. 26, 22, 21).

En el día 45 se encontraron diferencias significativas en la longitud de las RA ($H(2)=34.71$, $p<0.001$). Las accesiones de mayor rango fueron CC020 y CC021, las cuales no tuvieron diferencias significativas entre ellas, pero sí con CC032 y CC028, esta última fue la accesión de menor rango. En el día 101 se encontraron diferencias entre las accesiones $H(2)=49.13$, $p<0.001$. La de mayor rango fue CC020, que no tuvo diferencias significativas con CC021, pero sí con CC032 y CC031, la de menor rango. El resto de las accesiones presentaron semejanzas entre sí. Las diferencias significativas persistieron en el día 157 con $H(2)=39.15$, $p<0.001$. CC020 tuvo el mayor rango, pero no fue diferente de CC024, *M.h.san* y CC027, sin embargo, presentó diferencias a comparación de CC032 y CC031, la accesión de menor rango. El resto de las accesiones tuvieron similitudes entre sí (Anexo 3, longitud de las RA).

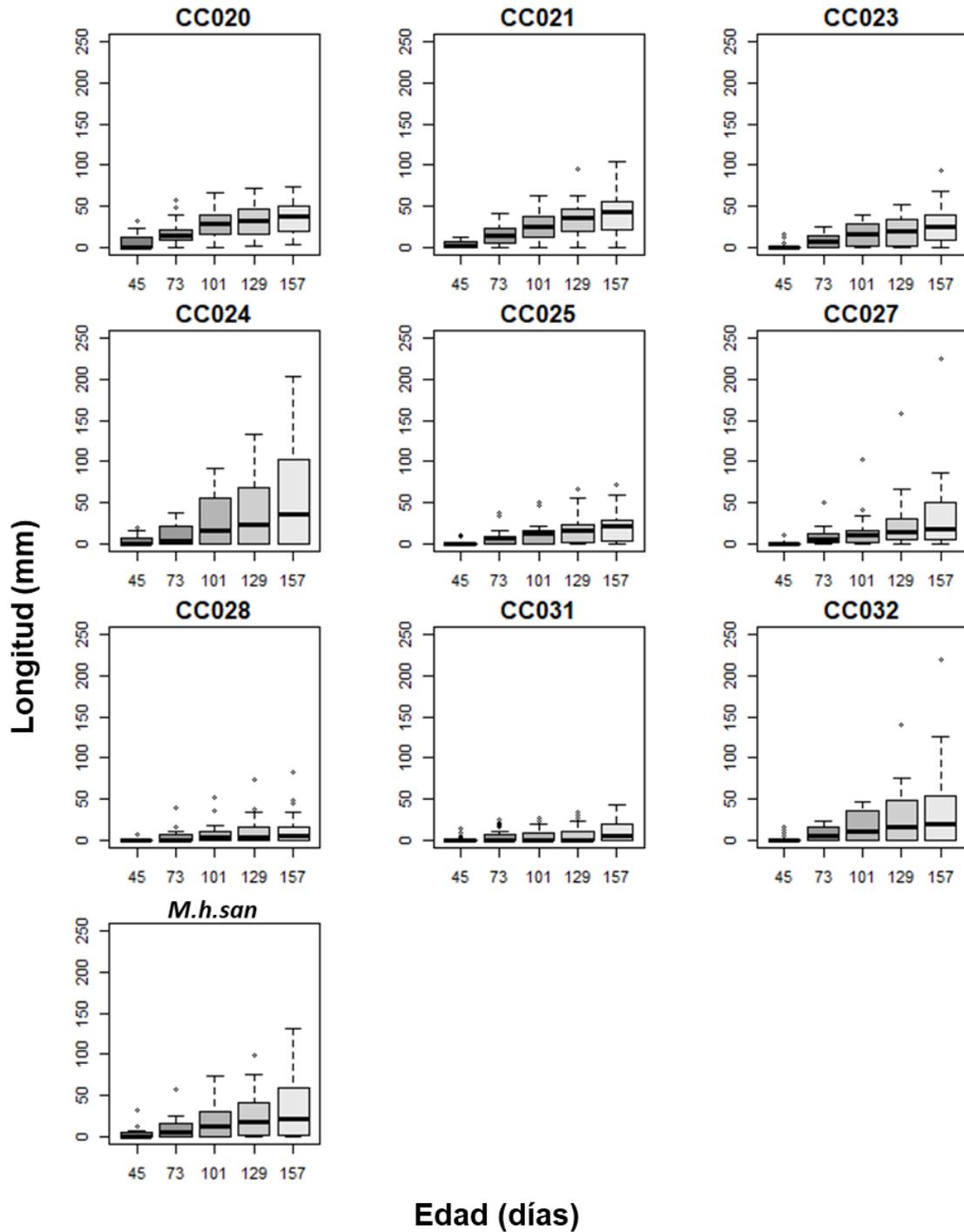


Figura 18. Se presenta la longitud de las raíces adventicias (mm) de plántulas de *M. haageana* en respuesta a la edad (días). Las cinco etapas de desarrollo se cuantificaron a los 45, 73, 101, 129 y 157 días. Se indica la subespecie correspondiente a cada accesión: **CC020** y **CC021**, *M. haageana* subsp. *haageana*. **CC023**, **CC024**, **CC025**, **CC031** y **CC032**, subsp. *meissneri*. **CC027** y **CC028**, subsp. *conspicua*. **M.h.san**, subsp. *san-angelensis*. Se muestran medianas (barras horizontales dentro de las cajas), cuartiles del 25 y 75% (bigotes inferior y superior) y datos atípicos (puntos).

- **Número de raíces adventicias**

El nRA de las plántulas de las diez accesiones en cada etapa de desarrollo se observa en la Figura 19. La accesión CC024 presentó el mayor nRA alcanzando casi 20. Destacó CC032 porque, a pesar de que presentó pocas RA, algunas plántulas sobrepasaron los 100 mm de longitud. El 50% superior de CC020, CC024 y *M.h.san* presentó mayor variación que el resto de las accesiones en las últimas tres etapas de desarrollo. El nRA mostró mayor variación entre accesiones que el nRL2 y nRB (Fig. 27, 25, 29).

Se encontraron diferencias significativas entre las accesiones en el día 45 $H(2)=39.71$, $p<0.001$, el rango más alto lo presentó CC021 sin embargo no fue estadísticamente diferente de CC020 y *M.h.san*, el rango más bajo lo presentó CC028, el cual no tuvo diferencias con CC027. En el día 101 se encontraron diferencias significativas $H(2)=67.12$, $p<0.001$. CC020 tuvo el rango más alto, pero no presentó diferencias significativas con CC021, sin embargo, sí con el resto de las accesiones. La de menor rango fue CC031. En el día 157 persistieron las diferencias significativas con $H(2)=63.86$, $p<0.001$, donde CC020 tuvo el rango más alto pero similar a CC021. Este par, en comparación con el resto de las accesiones, sí presentó diferencias significativas. La accesión de menor rango fue CC031, pero no tuvo diferencias con CC028 y CC032 (Anexo 3, nRA).

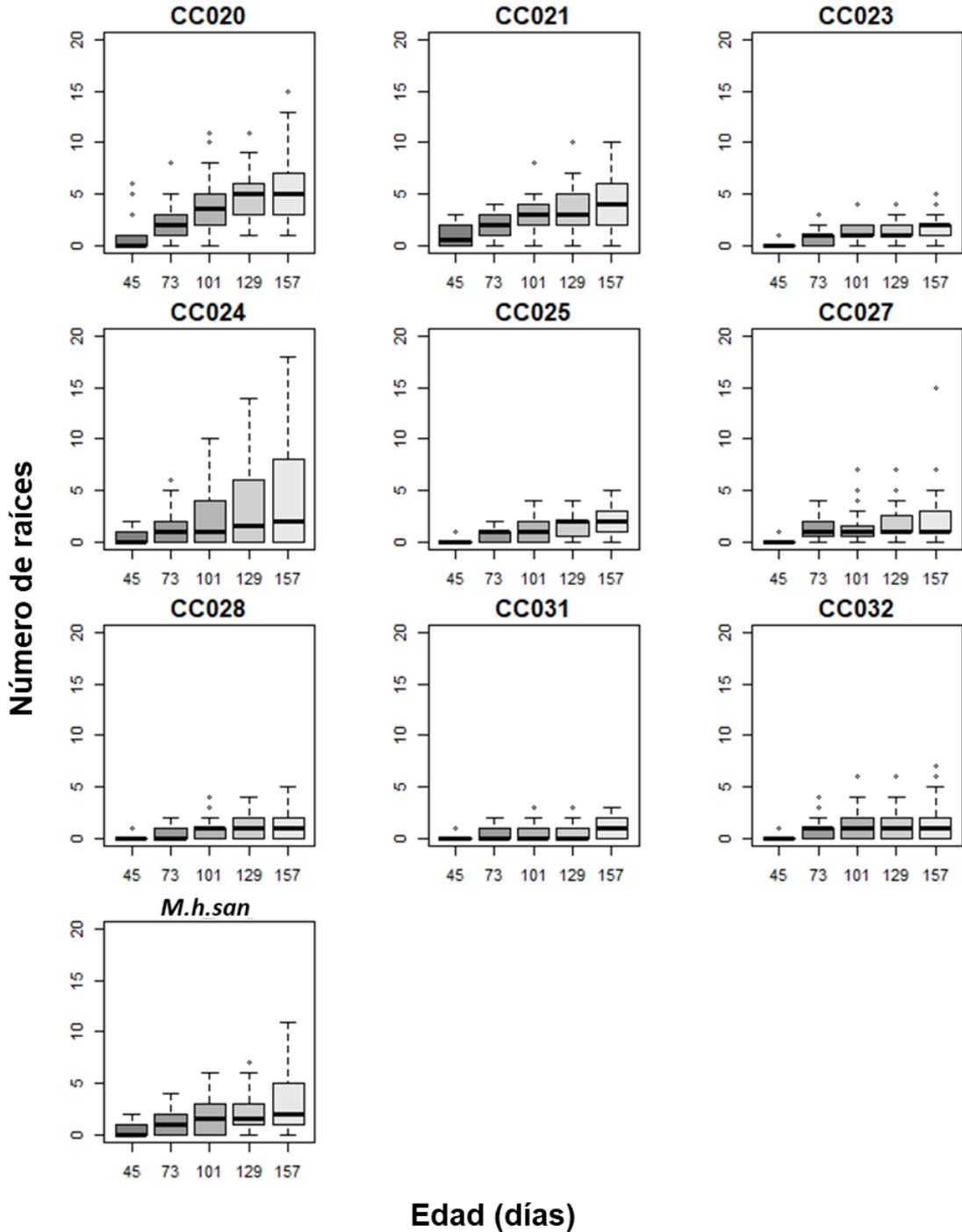


Figura 19. Se presenta el número de raíces adventicias de plántulas de *M. haageana* en respuesta a la edad (días). Las cinco etapas de desarrollo se cuantificaron a los 45, 73, 101, 129 y 157 días. Se indica la subespecie correspondiente a cada accesión: **CC020 y CC021, *M. haageana* subsp. *haageana*. **CC023, CC024, CC025, CC031 y CC032**, subsp. *meissneri*. **CC027 y CC028**, subsp. *conspicua*. **M.h.san**, subsp. *san-angelensis*. Se muestran medianas (barras horizontales dentro de las cajas), cuartiles del 25 y 75% (bigotes inferior y superior) y datos atípicos (puntos).**

- **Longitud de las raíces basales**

Casi el 100% de las plántulas de todas las accesiones no presentaron RB en las cinco etapas de desarrollo y su presencia sólo se identificó como puntos atípicos en las gráficas de la Figura 20. Las pocas RB que se observaron, aparecieron en el día 45 a excepción de la accesión CC032 donde este tipo de raíces emergieron en el día 73. Puede que, para esta especie, no sea común este tipo de raíces a comparación de otras. Las accesiones con mayor longitud de RB fueron CC021 y CC025 con poco más de 30 y 20 mm, respectivamente. En las accesiones CC023 y *M.h.san* no se observaron RB, por lo cual se omitieron en las gráficas.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la longitud de las RB dentro de las accesiones $H(2)=5.77$, $p>0.05$ en el día 45 y todas las accesiones pertenecieron al mismo rango. Para el día 101, a pesar de que no existieron diferencias significativas con $H(2)=14.08$, $p=0.09$, las accesiones tuvieron diferencias en los rangos, siendo el más alto el de CC021, este fue diferente al resto de las accesiones a excepción de CC025 y CC028. Esta situación se repitió en el día 157, donde $H(2)=13.44$, $p=0.14$ (Anexo 3, nRB).

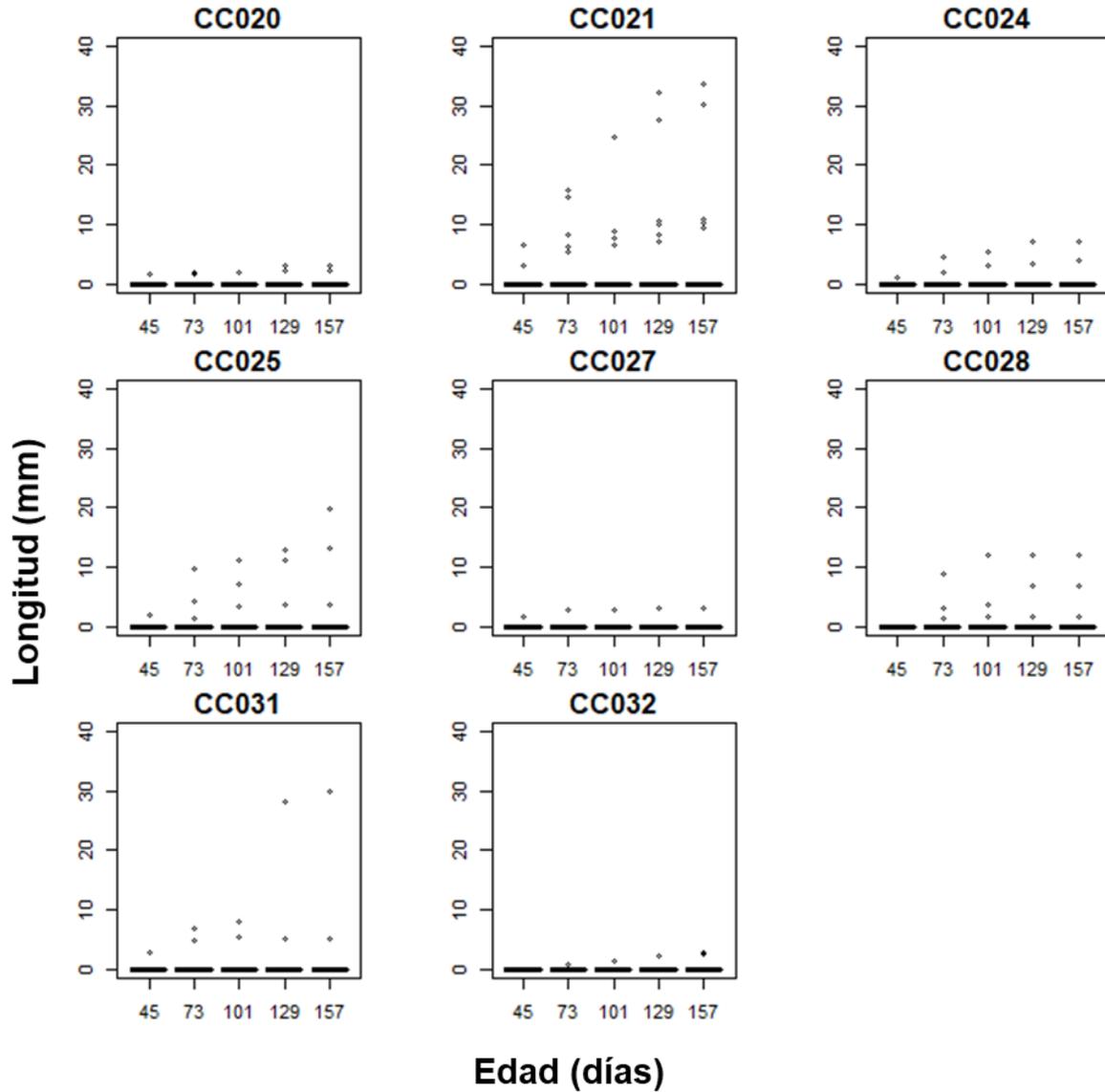


Figura 20. Se presenta la longitud de las raíces basales (mm) de plántulas de *M. haageana* en respuesta a la edad (días). Las cinco etapas de desarrollo se cuantificaron a los 45, 73, 101, 129 y 157 días. Se indica la subespecie correspondiente a cada accesión: **CC020** y **CC021**, *M. haageana* subsp. *haageana*. **CC024**, **CC025**, **CC031** y **CC032**, subsp. *meissneri*. **CC027** y **CC028**, subsp. *conspicua*. Se muestran medianas (barras horizontales dentro de las cajas), cuartiles del 25 y 75% (bigotes inferior y superior) y datos atípicos (puntos).

- **Número de raíces basales**

El nRB de las plántulas de las accesiones en cada etapa de desarrollo se observa en la Figura 21. Las plántulas de las accesiones CC021 y CC028 presentaron los mayores nRB, siendo de dos hasta cuatro raíces respectivamente, mientras que las plántulas del resto de las accesiones apenas presentaron una raíz. Después del día 73 no emergieron nuevas RB y solamente se elongaron las que ya estaban presentes. Las RB fueron el tipo de raíces con menor variación en el número y longitud a comparación del resto.

Para el nRB, en el día 45 no se observaron diferencias significativas entre las accesiones y todas pertenecen al mismo grupo ($H(2)=5.66$, $p=0.77$). En el día 101, a pesar de que no existieron diferencias estadísticamente significativas con $H(2)=14.06$, $p=0.11$, las accesiones tuvieron diferencias en los rangos, el más alto fue CC021, la cual no tuvo diferencias con CC025, CC028 y CC31 pero sí con el resto de las accesiones. La de menor rango fue *M.h.san*. Se mantuvo la misma situación para el día 157 con $H(2)=12.83$, $p=0.17$ (Anexo 3, nRB).

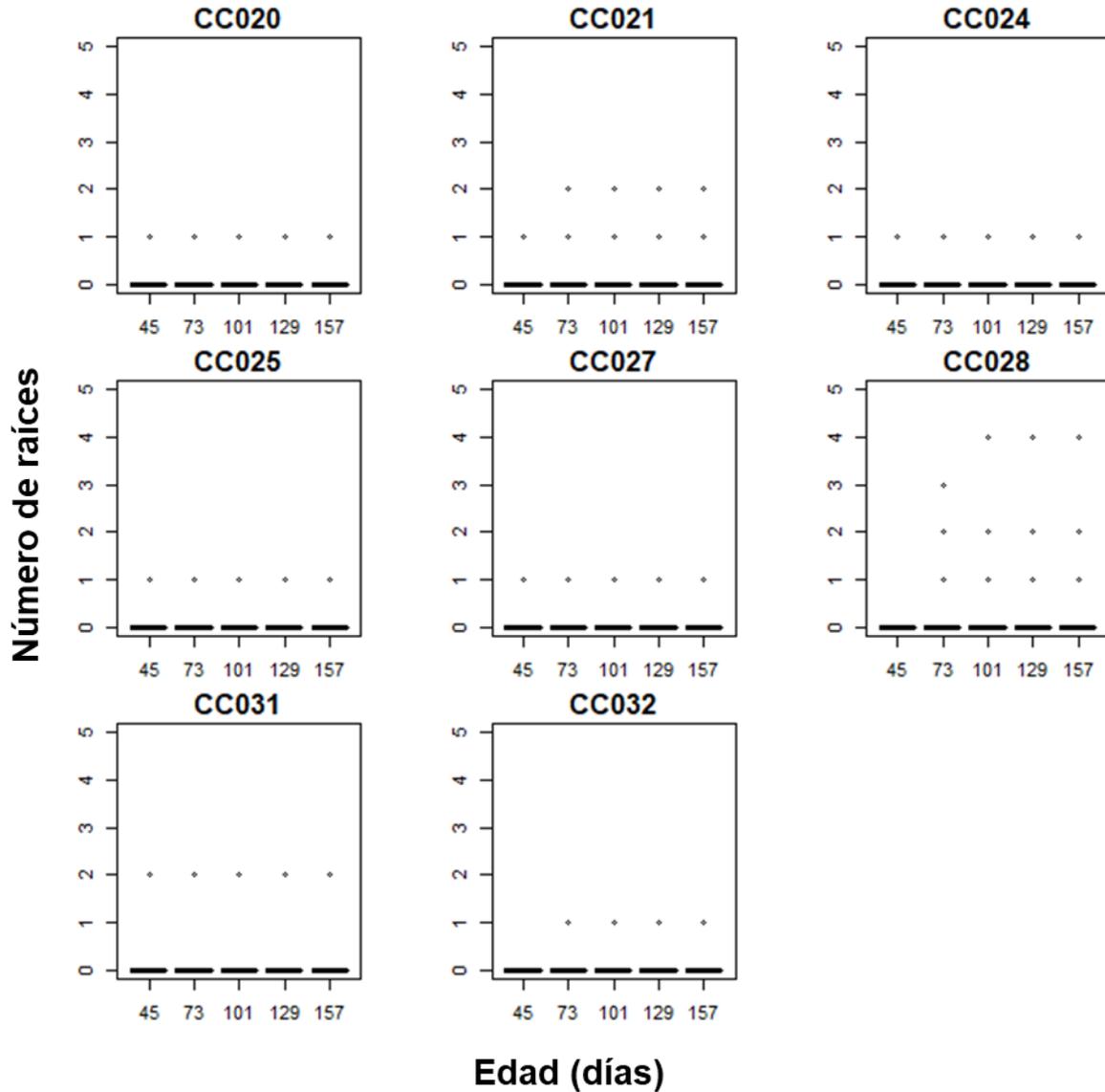


Figura 21. Se presenta el número de raíces basales de plántulas de *M. haageana* en respuesta a la edad (días). Las cinco etapas de desarrollo se cuantificaron a los 45, 73, 101, 129 y 157 días. Se indica la subespecie correspondiente a cada accesión: **CC020 y CC021**, *M. haageana* subsp. *haageana*. **CC024, CC025, CC031 y CC032**, subsp. *meissneri*. **CC027 y CC028**, subsp. *conspicua*. Se muestran medianas (barras horizontales dentro de las cajas), cuartiles del 25 y 75% (bigotes inferior y superior) y datos atípicos (puntos).

- **Raíz total**

La longitud de la RT aumentó en todas las etapas de desarrollo y se observó variación en este carácter entre individuos de la misma accesión y entre accesiones, lo cual se vio indicado por la amplitud de las cajas y los bigotes en las gráficas de la Figura 22. Por ejemplo, las plántulas de la accesión CC032 presentaron gran variación entre ellas respecto a la RT a comparación de la accesión CC028.

Los tipos de raíces que componen la RT contribuyeron en diferente medida al incremento de la longitud. Por ejemplo, para CC024, CC027 y *M.h.san*, el carácter que contribuyó más a la RT fue la longitud de las RA (Figura 18) y para CC032 fue la longitud de las RL (Figura 14). De manera particular, la accesión CC023 presentó puntos atípicos de casi 400 mm en la RT a pesar de tener poca variación de los datos (Figura 22), lo cual puede estar influenciado por la longitud de las RL2 (Figura 16). Se observó que las RL y RA podrían estar compensando la fase estacionaria de la RP en los días 129 y 157, ya que son los tipos de raíces con mayor longitud en esas etapas. La información anterior podría indicar diferentes estrategias en el crecimiento y desarrollo de los diferentes tipos de raíces desde el día 45 hasta el 157.

Para la LRT, en el día 45 se encontraron diferencias significativas $H(2)=82.24$, $p<0.001$ entre las accesiones. La de mayor rango fue CC021, la cual no fue diferente de CC024 y CC032, pero sí del resto. La de menor rango fue CC028 y las otras accesiones tuvieron semejanzas entre sí. En el día 101 las diferencias entre accesiones fueron significativas $H(2)=35.93$, $p<0.001$, la accesión de mayor rango fue CC024 y tuvo similitudes con el resto a excepción de *M.h.san*, CC027, CC025 y CC028. A su vez, estas accesiones son similares entre sí, siendo CC028 la de menor rango. Las diferencias persistieron hasta el día 157, donde $H(2)=37.46$, $p<0.001$, destacó CC024 como la accesión de mayor rango sin embargo, no fue diferente de CC032. La de menor rango fue CC028, la cual no presentó diferencias con CC025 y *M.h.san*. El resto de las accesiones no fueron significativamente diferentes entre sí (Anexo 3, RT).

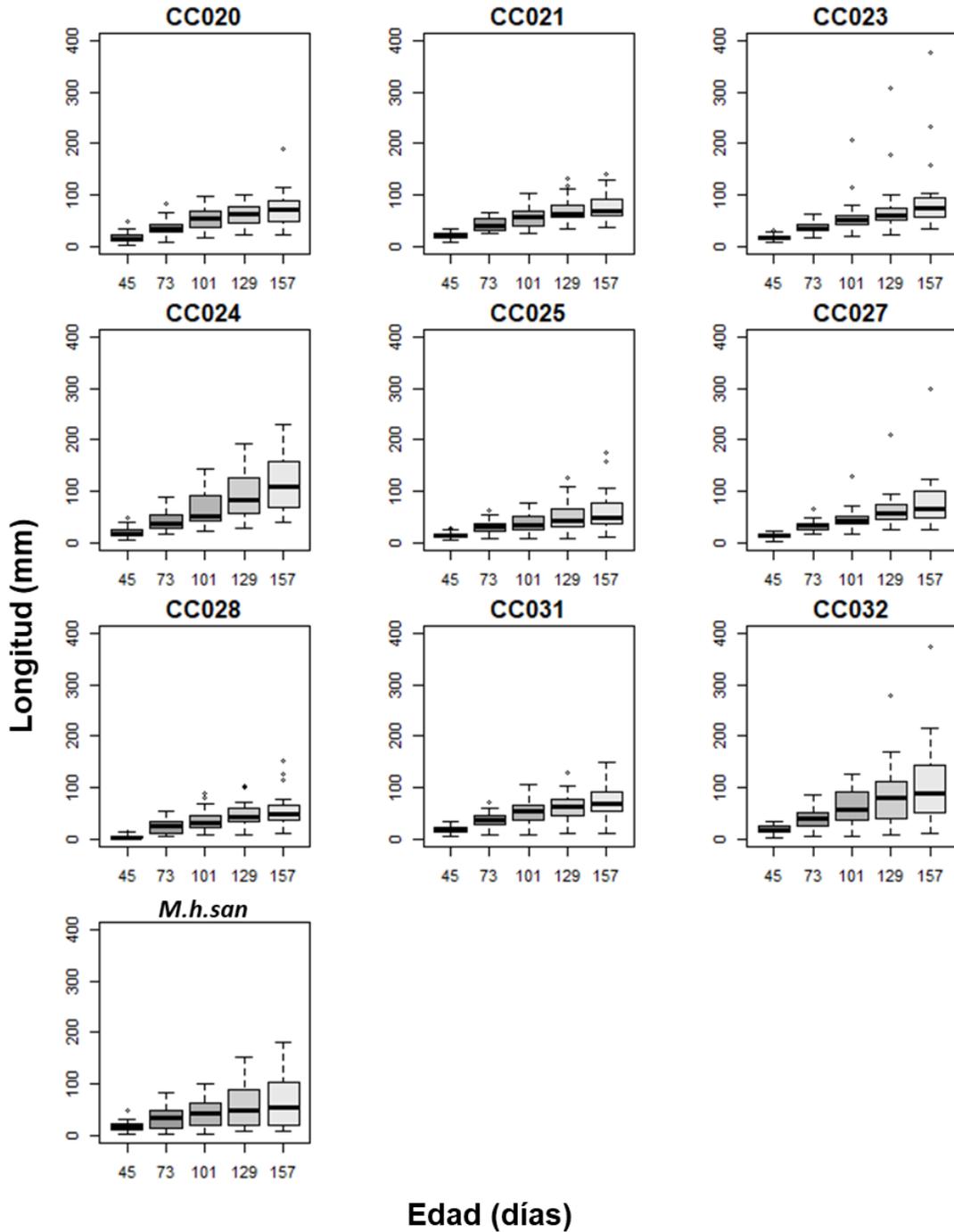


Figura 22. Se presenta la raíz total de plántulas de *M. haageana* en respuesta a la edad (días). Las cinco etapas de desarrollo se cuantificaron a los 45, 73, 101, 129 y 157 días. Se indica la subespecie correspondiente a cada accesión: **CC020 y CC021**, *M. haageana* subsp. *haageana*. **CC023, CC024, CC025, CC031 y CC032**, subsp. *meissneri*. **CC027 y CC028**, subsp. *conspicua*. **M.h.san**, subsp. *san-angelensis*. Se muestran medianas (barras horizontales dentro de las cajas), cuartiles del 25 y 75% (bigotes inferior y superior) y datos atípicos (puntos).

9. Discusión

9.1 Caracterización fenotípica de las raíces de *M. haageana*

En todas las accesiones de *M. haageana* se observó el crecimiento determinado de la raíz primaria, a partir de esto, se desarrollaron raíces simpodiales en segmentos que confirieron mayor longitud a la RP (Figura 12). Es decir, al consumirse el meristemo subapical de la raíz, surge un nuevo primordio de raíz de manera subapical (raíz simpodial), que le da continuidad como si fuese un eje principal continuo. Este patrón se repite con rondas sucesivas de determinación del ápice y emergencia de nuevos primordios de manera subapical, de tal manera que en realidad el eje principal de la raíz es un conjunto de segmentos de raíces simpodiales. Esto se da debido a la determinación de la raíz primaria que ocurre de manera rápida, en cuestión de días, a partir de la germinación y se ha interpretado como una adaptación en Cactaceae (excepto Pereskioideae y Maihuenioideae, que presentan crecimiento indeterminado de la raíz primaria) a ambientes áridos y semiáridos, ya que fomenta el desarrollo de raíces laterales y, por lo tanto, mayor oportunidad de captación de agua en lugares con déficit de este recurso (Dubrovsky y Gómez-Lomelí, 2003; Shishkova *et al.*, 2013; Rodríguez-Alonso *et al.*, 2018). González (2019) reportó el crecimiento de las raíces de manera simpodial para once especies de *Mammillaria* y en este trabajo, se reporta por primera vez la presencia de este fenómeno para la especie *M. haageana*. La necesidad de captación de agua está relacionada con los ambientes áridos y con poca precipitación, lugares similares a donde suele encontrarse *M. haageana*. Datos meteorológicos promedio de 1951 a 2010, mostraron que en Nochixtlán, Oaxaca sólo hay lluvia 36.7 días en todo el año con precipitación media anual de 455.3 mm y Zapotitlán Salinas, Puebla tiene un promedio anual de 44.5 días con lluvia y 407.8 mm (SMN, 2020). Por lo anterior es de esperarse que las accesiones de *M. haageana* presenten patrones de desarrollo de determinación del ápice de la raíz y la emergencia sucesiva de raíces simpodiales.

Queda por resolver si hay variación natural en la periodicidad a los cuales aparecen las raíces simpodiales como se ha observado en otros trabajos (Lara, comunicación personal). Se propone estudiar los sistemas de raíces de accesiones provenientes de ambientes no estrictamente áridos (con base en la precipitación media anual), en busca de raíces simpodiales; según lo propuesto por Shishkova y colaboradores (2013) se esperaría que este tipo de raíces estuviera presente. Por ejemplo, la accesión CC039 proviene de Magdalena

Jaltepec, Oaxaca que tiene precipitación media anual de 1,228.1 mm, poco más del doble que para los sitios en los que se colectaron las accesiones estudiadas. Además, queda por resolver si hay variación natural en la periodicidad a los cuales aparecen las raíces simpodiales como se ha observado en otros trabajos (Antonio Lara, comunicación personal).

De manera general para las accesiones estudiadas, la longitud de la RP aceleró su crecimiento en las tres primeras etapas y se estacionó en las dos últimas (129 y 157 días), teniendo un rango de longitud de 20 mm hasta poco más de 30 mm. Destacó la accesión CC024, la cual midió hasta 60 mm (Figura 18). La RP puede ser clave para el establecimiento de las plántulas ya que podría constituir el sistema de sujeción al sustrato, sin embargo, su longitud puede verse mermada por los obstáculos físicos, la limitación de fósforo en el suelo y la poca profundidad o disponibilidad de suelo (López-Bucio *et al.*, 2002). Estas características son comunes en los tipos de suelo de la Reserva de la Biosfera de Tehuacán-Cuicatlán. Durante la colecta se observó que los suelos son poco profundos ya que, aproximadamente después de los 10 cm de suelo suelto, le sigue una capa muy compacta y difícil de penetrar (Arriaga *et al.*, 2000). En una población reintroducida de *M. haageana* subsp. *san-angelensis*, localizada en la REPSA, también se observó el establecimiento de las plantas en condiciones de poco suelo ya que crecen sobre formaciones basálticas (Dra. Teresa Valverde y Biól. Jerónimo Reyes, comunicación personal). En cactáceas columnares, el crecimiento de la RP sirve como anclaje al sustrato mientras que el sistema de RL tiende a crecer de manera radial y lateral para alcanzar mayor área de cobertura del terreno y, por lo tanto, de captación de agua en ambientes desérticos (Gibson y Nobel, 1986). Loza-Cornejo y Terrazas (2011) reportaron las medias de la longitud de la raíz principal en plántulas de seis meses de edad para *Escontria chiotilla* con 0.43 cm, *Myrtillocactus geometrizans* con 0.28 cm, *Neobuxbaumia mezcalaensis* con 1.55 cm, *Neobuxbaumia multiareolata* con 1.52 cm, *Pachycereus grandis* con 3.80 cm y *Stenocereus queretaroensis* con 0.75 cm. Estos datos concuerdan con la longitud corta de la RP de las accesiones de *M. haageana*, lo que permite inferir que las raíces se desarrollan de manera poco profunda. Si bien, en cactáceas columnares la RP sirve como sujeción al sustrato, puede que en las cactáceas pequeñas y globosas como *M. haageana*, las raíces que tengan mayor relevancia en la fijación al sustrato y la adquisición de nutrientes sean las raíces adventicias o laterales, además, se ha visto que en el sistema de raíces de frijol común frente a limitación y abundancia de fósforo, la RP tiene un costo metabólico más alto en su crecimiento que las RA y RL, por lo cual, la planta podría optar por invertir energía en el crecimiento de raíces más efectivas (Miller *et al.*, 2003; Walk *et al.*, 2006).

Dentro de las accesiones, el crecimiento de las RL fue muy variable a través del tiempo. En CC024 y CC032 (Figura 14) aparecieron desde el día 45, mientras que en el resto proliferan desde el día 73 en adelante, con excepción de CC021, en la que no se presentan hasta el día 101. En la literatura se indica que los cactus pequeños y globosos suelen presentarse sistemas de raíces compactos con muchas laterales que se desarrollan de manera poco profunda, lo cual puede estar asociado a sustratos someros (Gibson y Nobel, 1986). Además, la detención del crecimiento de la RP parece inducir el desarrollo de RL, lo cual podría ayudar al establecimiento de la plántula al aumentar la superficie de la raíz y promover la absorción de agua y solutos, como se ha visto en *Stenocereus gummosus* y *Ferocactus peninsulæ* (Dubrovsky, 1997b). Además, el aumento en la longitud y densidad de las RL también permite una mayor exploración del suelo (López-Bucio *et al.*, 2002; Shimizu *et al.*, 2004). No se observaron RL2 en las plántulas de ninguna accesión en el día 45 ya que, al crecer sobre las RL, empezaron a proliferar desde el día 73, cuando ya hay RL. En las plántulas de *M.h.san*, las RL2 aparecieron hasta el día 157, a pesar de que el crecimiento de las RL empezó desde el día 73. Se observaron valores atípicos entre 50 y poco más de 150 mm para la longitud de las RL2 en CC023 y CC025 (Figura 16). Las RL2 ayudan a extender la longitud de las RL y, por lo tanto, tienen las mismas funciones de exploración y captación de agua y nutrientes.

Las RA proliferaron desde el día 73 y destacó su progreso en los días 129 y 157. Sólo en CC028 y CC031 (Figura 18) la mitad de las plántulas no presentaron este tipo de raíces hasta el día 129, lo que representa un crecimiento tardío en contraste con las otras accesiones. Las plántulas con las RA más largas fueron de las accesiones CC024 y CC032 con 100 mm. Las RA agregan mayor longitud al sistema de raíces; esta característica fue observada en campo para las subespecies de *M. haageana* al momento de la colecta de plantas. En San Pedro y San Pablo Tequixtepec, Oaxaca, donde se colectó la accesión CC028, las RA de una planta colectada se extendían lateralmente casi a ras de suelo alcanzando hasta 132 cm y 110 cm para una planta de Santiago Chazumba, Oaxaca, donde se colectó la accesión CC027. En plantas de frijol, se ha observado que las RA tienen ángulos de crecimiento poco profundos y emergen en la capa superior del suelo; esto se ha propuesto como un posible rasgo adaptativo para la obtención de fósforo, el cual tiene baja movilidad en el suelo y se acumula en la capa superior por la deposición de tejido vegetal senescente (Bonser *et al.*, 1996; Walk *et al.*, 2006; Rubio y Lynch, 2007).

En la mayoría de las plántulas no se encontraron RB, en las accesiones CC021, CC025 y CC031 algunas RB alcanzaron entre 20 y 30 mm de longitud. Después del día 73 no emergieron nuevas RB y sólo se elongaron las que ya estaban presentes en etapas anteriores (Figura 20). González (2019) describió la presencia de RB en plántulas de once especies de *Mammillaria*, bajo las mismas condiciones experimentales que las de este trabajo. Las especies *M. coahuilensis*, *M. crucigera*, *M. hernandezii* y *M. huitzilopochtli* tuvieron patrones similares a *M. haageana* en el número y longitud de RB. Se ha encontrado que para algunas especies de la serie *Supertextae*, a la que pertenece *M. haageana*, las RB no son prominentes pero algunas plantas sí las presentan (Lara, comunicación personal). En la especie *M. haageana*, la presencia de RB puede tratarse de un carácter atípico en el sistema de raíces y esto podría estar compensado por el desarrollo de otros tipos como las RA o RL.

9.2 Estrategias de crecimiento de las raíces

La suspensión del crecimiento de la RP puede estar influenciado por el desarrollo de los otros tipos de raíces. En esta investigación destacaron las RL, RL2 y RA, lo cual indica que las accesiones tienen diferentes estrategias de crecimiento. Ejemplo de ello es el crecimiento de RL y RA (Fig. 23), ya que se observó que para CC024, cuando hay menor variación de los datos en la longitud de las RL, es totalmente lo contrario para la longitud de las RA, cuya variación de los datos y longitud fue mayor. Lo anterior ocurrió a la inversa para el caso de CC031 donde se observó mayor variación en la longitud de las RL que en la longitud de las RA. Esta observación indica que hay diferentes estrategias de crecimiento de las raíces dentro de las subespecies ya que CC024 y CC031 son accesiones descritas como *M. haageana* subsp. *meissneri*. Walk y colaboradores (2006) hicieron una simulación del sistema de raíces de plantas de frijol en el que se observó que, en condiciones de bajos niveles de fósforo, aumentó la longitud de las RA y disminuyó la longitud de la RP y las RB. Estos resultados también se han observado en experimentos en laboratorio e invernadero para frijol común ((Miller *et al.*, 2003; Rubio y Lynch, 2007). Esto puede significar un trade-off en la asignación de recursos para mantener el tipo de raíces más efectivo para la planta de acuerdo con las condiciones de su lugar de origen. Para plántulas de *Echinocactus platyacanthus* se ha encontrado que la exposición prolongada a altas concentraciones de salinidad promueve el crecimiento de las RA y RB aunado a la inhibición del crecimiento de la RP (Rosas, comunicación personal). Un ejemplo de la variación entre accesiones se observa para la longitud de las RA, en específico

para el caso de CC028 con poca variación en la distribución de los datos a comparación de *M.h.san* (Fig. 18).

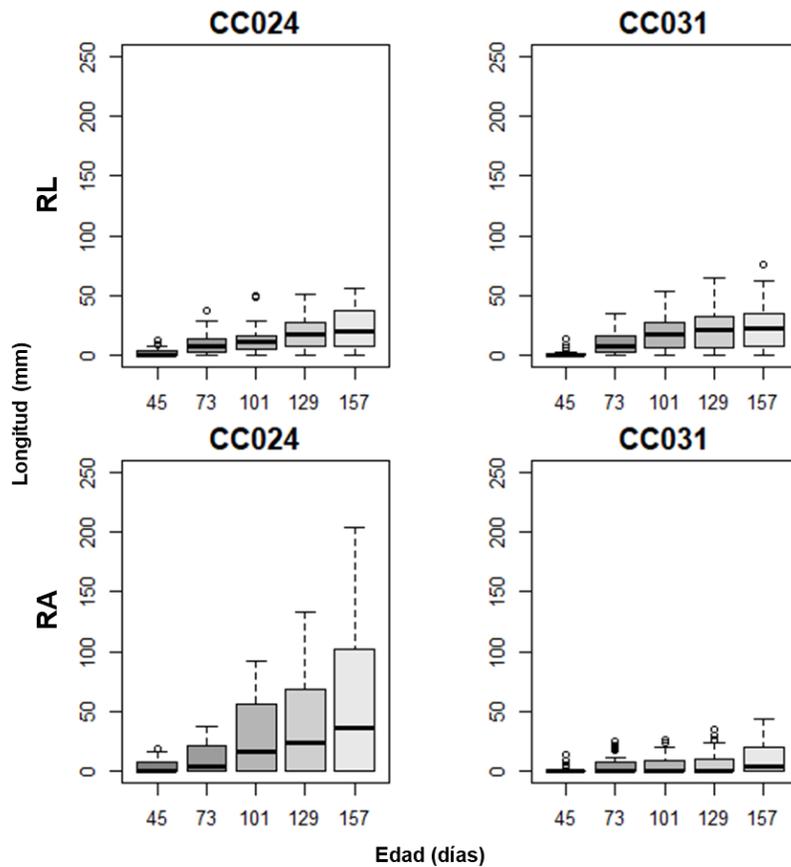


Figura 23. Se presenta la longitud de las raíces adventicias (RA) y las raíces laterales (RL) de las plántulas de las accesiones CC024 y CC031 en respuesta a la edad (días). Las accesiones corresponden a *M. haageana* subsp. *meissneri*.

El incremento en la RT de las accesiones está dado por la longitud de los diferentes tipos de raíces, y, dentro de ellos, se identificaron caracteres que contribuyeron más que otros, lo cual se interpretó como diferentes estrategias en el crecimiento y desarrollo desde el día 45 hasta el 157. Ejemplo de ello es que en la accesión CC024, las RA contribuyeron en mayor medida a la RT (Figuras 18 y 22) mientras que para CC028, son las RL (Figuras 14 y 22). Se ha observado que los diferentes tipos de raíces tienen funciones específicas además de responder a gradientes de disponibilidad de agua y de micro y macronutrientes (Rubio y Lynch, 2007; Grifford *et al.*, 2013; Gruber *et al.*, 2013; Rosas *et al.*, 2013).

En este trabajo se encontró que al interior de una especie hay gran variación en los fenotipos del sistema de raíces entre accesiones y entre individuos de la misma accesión (de manera cualitativa y cuantitativa). Lo mismo ocurrió para los fenotipos observados de las raíces de las subespecies, no se encontraron patrones únicos para una subespecie en específico, *M. haageana* subsp. *haageana*, subsp. *meissneri* y la subsp. *conspicua* presentaron pocas RB, destacó la accesión de la subsp. *san-angelensis* en la que no estuvieron presentes, al igual que en una accesión de la subsp. *meissneri* (CC023). Dentro de la subsp. *meissneri* se encontraron diferentes estrategias de crecimiento respecto al crecimiento de las RA y las RL. El único rasgo que parece presentarse en todas las accesiones, independientemente de las subespecies, es que la presencia de RB se considera atípica. Lo anterior nos habla sobre la variación natural o plasticidad fenotípica que pueden presentar las raíces, tal como ha sido reportado en González (2019) para once especies de *Mammillaria* y en el trabajo de Martínez Berdeja y Valverde (2008) para *M. pectinifera*, *O. denegrii* y *C. werdermannii*.

Se intuye que los fenotipos de los sistemas de raíces observados en este trabajo están influenciados por el genotipo, ya que, las plántulas de las diez accesiones crecieron bajo la misma condición. Entonces, los fenotipos podrían ser resultado del proceso evolutivo que conduce a adaptaciones a las condiciones del hábitat natural de cada lugar de origen de las accesiones, y que están fijadas genéticamente. Sin embargo, también puede haber una explicación no adaptativa para la gran variedad de sistemas de raíces, la cual estaría influenciada principalmente por cuellos de botella, endogamia y fragmentación del paisaje, propiciando la fijación de ciertos caracteres de manera aleatoria. Por ejemplo, Maya-García y colaboradores (2016) encontraron que en poblaciones de *M. pectinifera*, en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, había deficiencia de heterocigotos y cuellos de botella recientes, derivados de aislamiento de las poblaciones por perturbación y fragmentación del paisaje; esto provocado por actividades humanas y saqueo. Otro ejemplo es el encontrado por Solórzano y colaboradores (2014), quienes proponen que la variación genética en *M. huitzilopochtli* y *M. supertexta* está moldeada por la deriva génica, el aislamiento geográfico y la endogamia. Estas condiciones se comparten con las poblaciones de *M. haageana* en campo en sus ambientes naturales, que actualmente están muy perturbados, y cuyos núcleos de distribución son discontinuos en general.

9.3 Engullimiento de la raíz principal por el tallo

Se observó el engrosamiento de la RP en varias plántulas de las accesiones CC025, CC027 y CC031. En González (2019) se reportó el engrosamiento de raíces en *M. coahuilensis* y *M. duwei* a los 101 días. Si bien, las raíces de las cactáceas presentan engrosamiento por crecimiento secundario, este no es prominente en todas las especies; sin embargo, esto mismo puede estar influenciado por el ambiente. Por ejemplo, se ha indicado que el grosor de la base de la RP de *Opuntia ficus-indica* tiende a aumentar bajo condiciones de estrés hídrico (Snyman, 2014). También se ha observado que el crecimiento en grosor de la raíz puede ser una estrategia para almacenar sustancias (Bravo-Hollis, 1978; Haustein, 1988). Por lo tanto, es posible que el engrosamiento de la raíz de las plántulas de las accesiones CC025, CC027 y CC031 podría tener bases adaptativas.

Se observó el engrosamiento de la RP de una plántula de la accesión CC027 y el engullimiento progresivo de la RP por el brote (Figura 11). Como consecuencia, la longitud de la RP disminuyó a partir del día 101, lo que continuó en las siguientes etapas. La escasez de literatura al respecto parece indicar que este fenómeno no se había observado previamente en las cactáceas. Algunas suculentas globosas y pequeñas tienen raíces contráctiles, que son raíces principales tuberosas y gruesas. Cuando hay altas temperaturas y sequía, los tallos y las raíces se contraen debido a la pérdida de agua, lo cual deja el tallo a ras de suelo y, a veces, en nodricismo abiótico con rocas, lo cual funciona como un mecanismo de protección contra temperaturas letales. Esto último ha sido reportado para *Ariocarpus fissuratus*, *Mammillaria macdougali* y *Lophophora williamsii* (Hemenway y Breazeale, 1935; Garrett *et al.*, 2010). El engullimiento de la RP por el brote en *M. haageana* podría tener beneficios similares a los de las raíces contráctiles; alternativamente el fenómeno observado simplemente puede ser resultado del estrés inducido por la condición experimental.

9.4 Observaciones de los hábitats y ambientes de *M. haageana*

A partir del trabajo de campo se incluyen las siguientes percepciones sobre los hábitats y ambientes de *M. haageana*. Los principales factores de riesgo para la especie en su hábitat natural son el saqueo, la fragmentación del hábitat provocado por la construcción de carreteras y vías de trenes, expansión de asentamientos humanos, establecimiento de vertederos de basura al aire libre, pastoreo, minería y desmonte de terreno. Esta última actividad con fines de agricultura o simplemente para generar espacios con ausencia de especies nativas. Estas actividades fueron ampliamente observadas en la Reserva de la Biosfera de Tehuacán-

Cuicatlán, a pesar de que está bajo protección especial por ser Área Natural Protegida (ANP) y de ser Patrimonio de la Humanidad Mixto por la UNESCO en 2018 (SEMARNAT, 2013; SEMARNAT, 2018). En campo, se observó que *M. haageana* crece en lugares con alta heterogeneidad ambiental, desde matorrales xerófilos, zacatonales, tetecheras, cardonales, hasta bosques de encino. Tan solo en el Valle de Zapotitlán en Puebla, *M. haageana* se ha reportado hasta en seis tipos de vegetación diferentes, junto con cactáceas columnares y otras de tallo pequeño y globoso. Las plantas de *M. haageana* suelen encontrarse creciendo en lugares con poco suelo disponible, están expuestas directamente al sol, pero también en nodricismo con rocas y árboles. Esto se ha reportado por Mandujano y colaboradores (2002) donde se indicó que *M. haageana* se encuentra asociada de manera positiva con *Prosopis laevigata* en el Jardín Botánico Helia Bravo de Zapotitlán Salinas (Valle de Tehuacán-Cuicatlán), mientras que Peters y colaboradores (2008) reportaron mayor longevidad y crecimiento en plantas ubicadas junto a rocas. Se encuentran en suelos calcáreos, limosos que no se saturan de agua, arenosos, basalto y en sustratos con mucha materia orgánica.

9.5 *M. haageana* subsp. *san-angelensis*

Este trabajo se realizó en el marco de un proyecto de la REPSA y el Jardín Botánico del IB-UNAM acerca de la conservación y estado actual de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* y sus especies relacionadas, con el fin de identificar otras accesiones con genotipos y fenotipos afines, o que pudieran enriquecer la variación genética. Respecto a las raíces de la accesión *M.h.san*, durante la germinación, se observaron plántulas con el brote y RP atrofiados, lo cual podría atribuirse al efecto de la endogamia, si fuese el caso de que las plantas madre sean parientes cercanos, idea sugerida por algunos expertos y tomando en cuenta que las semillas fueron obtenidas del Centro de Adopción de Plantas Mexicanas en Peligro de Extinción del JB-UNAM. Respecto a los fenotipos de las raíces de plántulas saludables, el crecimiento de la RP se detuvo a partir del día 129, lo cual marcó pauta para la proliferación y aumento de la longitud de las RA en mayor medida en comparación de las RL y RL2. La accesión *M.h.san* mostró similitud en la variación de los datos con la accesión CC032 para la longitud de la RP y de las RA, con CC025 para la longitud de las RL, el nRL y el nRA. Además, no se observaron RB al igual que en la accesión CC023. Por lo anterior, se puede decir que no se encontró un fenotipo de una sola accesión que fuera similar al sistema de raíces de *M.h.san* ya que ésta comparte características morfológicas con varias accesiones. Los sitios donde se hicieron las colectas compartieron condiciones de poco suelo y exposición directa al Sol, sin embargo, no se

observó un único sitio realmente similar a la REPSA, lugar de origen de la accesión en cuestión. Para encontrar afinidades más certeras sería ideal caracterizar la variación genotípica, en conjunto con otros parámetros fenotípicos de las accesiones.

9.6 Germinación

Respecto al porcentaje de germinación, la accesión CC021 tuvo el valor más alto con 84.47%, lo cual coincide con lo reportado para *M. haageana* y *M. supertexta* como fotoblásticas positivas y con poco más de 80% de germinación para ambos casos, en luz blanca y con fotoperiodo 12 h a 25°C y n=100 (Benítez-Rodríguez *et al.*, 2004). Los porcentajes más bajos fueron para CC023 y CC038 con 2 y 38%, respectivamente. Si bien se tienen datos de germinación, en esta tesis no se discuten a profundidad ya que sólo se obtuvieron de manera adicional.

9.7 Consideraciones y perspectivas

A pesar de que el método de estudio de los fenotipos de la AR se llevó a cabo en condiciones artificiales y con imágenes en 2D, este es un método común y ya estandarizado para *Arabidopsis thaliana* y cultivos de interés alimenticio como variedades de arroz, frijol, maíz, trigo y tomate. Este método favorece el estudio no destructivo, en tiempo real y en condiciones controladas y replicables (Gruber *et al.*, 2013). No obstante, el sistema podría ser no del todo realista porque las raíces están en presencia de luz, lo cual puede afectar el crecimiento como se ha visto para *A. thaliana*, especie en la que la iluminación de la raíz acorta la longitud de la raíz principal y promueve la emergencia temprana de raíces laterales (Silva-Navas *et al.*, 2015). Bajo este supuesto, se esperaría que, en oscuridad, el sistema de raíces de las accesiones de *M. haageana* fuera mayor en la longitud de la RP, y que la aparición de las RL ocurriera en etapas más tardías. En este sentido, sería interesante evaluar el crecimiento de las raíces sin la presencia de luz para corroborar la hipótesis.

A partir de este trabajo se pueden tomar múltiples vertientes para investigaciones futuras. Sólo abarcan los fenotipos en una condición *in vitro*, por lo cual sería interesante experimentar en diferentes tratamientos con el objetivo de identificar características particulares de los sistemas de raíces asociadas a las variables ambientales. Algunas de las variables ambientales podrían ser estrés salino e hídrico, diferencia de temperaturas, adición y exclusión de nutrientes en

específico, así como el desarrollo de experimentos en invernadero con diferentes sustratos. También se propone el estudio de los datos de los sistemas de raíces con análisis multivariados para identificar si hay efectos del ambiente particular de cada sitio de colecta respecto a los fenotipos observados de las raíces de las plántulas de las accesiones ya que en este trabajo solamente se buscó caracterizar la variación natural de las raíces en una misma condición de crecimiento. Además, queda por definir si los resultados encontrados de los fenotipos de los sistemas de raíces son representativos respecto a lo que sucede en una condición natural. En este trabajo solamente se hicieron inferencias sobre cómo ciertos fenotipos observados se relacionan con algunas adaptaciones reportadas en la literatura para las condiciones ambientales (iguales o similares) en las que se encuentran los puntos de colecta de las accesiones de *M. haageana*. La caracterización fenotípica de las raíces de esta especie es apenas un pequeño paso para comprender los mecanismos genéticos que subyacen a la variación natural, campo de la Genética Cuantitativa.

Las semillas colectadas en campo e invernadero ya han servido para investigaciones sobre morfología floral, genómica, fenología y biología molecular aplicada a la sistemática de las subespecies con la intención de delimitarlas. En esta tesis, sólo se utilizaron accesiones asociadas a matorral xerófilo debido a la contaminación de la accesión CC035 durante la germinación, por lo que se sugiere nuevas colectas en campo en Oaxaca, en lugares con vegetación de bosque de encino para contrastar los fenotipos de las raíces. Lo anterior podría conducir a la investigación del hongo que, aparentemente, está asociado a las semillas de *M. haageana*.

10. Conclusiones

- En este trabajo se caracterizó fenotípicamente el sistema de raíces de plántulas de diez accesiones de *M. haageana*. Se encontró que, al menos en una condición homogénea *in vitro*, hay variación en los fenotipos de los diferentes tipos de raíces dentro y entre accesiones de la misma especie.
- Se encontró que las raíces de plántulas de *M. haageana* tienen crecimiento simpodial.
- Los sistemas de raíces de las plántulas suelen ser compactos, de poca profundidad respecto a la longitud de la RP y de gran extensión, conferida por la longitud de las RL y de la RA. Estas diferencias podrían estar influenciadas por el genotipo, las cuales a su vez podrían ser producto de procesos adaptativos o deriva génica.
- Se encontraron formas de desarrollo que se comparten entre accesiones como el estancamiento en el crecimiento de la longitud de la RP en los días 129 y 157, al mismo tiempo, se vieron favorecidos otros caracteres como el aumento en la longitud de las RL y de las RA.
- Se identificaron diferentes estrategias de crecimiento entre las accesiones, como una mayor longitud de las RA cuando la longitud de las RL es menor y viceversa. Lo cual puede significar un trade-off en la asignación de recursos de las plántulas para el desarrollo de cierto tipo de raíces y así, asegurar un fenotipo óptimo para las condiciones de su lugar de procedencia.
- Se consideró que la presencia de RB en plántulas de *M. haageana* es un carácter atípico, al menos en las condiciones experimentales de este trabajo.
- Se observó el aparente engullimiento de la RP por el brote, aunado al engrosamiento de las raíces, fenómeno particular en algunas accesiones de *M. haageana*.
- Las semejanzas y diferencias de los diferentes tipos de raíces a nivel de subespecie dependen de la etapa de desarrollo y suelen ser muy variables, por lo tanto, no se encontraron fenotipos únicos atribuidos a una subespecie en específico.

- Se contribuyó a la creación de la colección de semillas de *M. haageana*, la cual ha servido como fuente de material biológico para otros estudios y como acervo de resguardo para la conservación.

11. Referencias

- Acuña, T., y Wade, L. (2013). Use of genotype x environment interactions to understand rooting depth and the ability of wheat to penetrate hard soils. *Annals of botany*, 112(2): 359-368.
- Alaguero-Cordovilla, A., Gran-Gómez, F., Tormos-Moltó, S. y Pérez-Pérez, J. (2018). Morphological characterization of root system architecture in diverse tomato genotypes during early growth. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(12): 13888.
- Alonso-Blanco, C., Aarts, M., Bentsink, L., Keurentjes, J., Reymond, M., Vreugdenhil, D., y Koornneef, M. (2009). What has natural variation taught us about plant development, physiology, and adaptation? *The Plant cell*, 21(7): 1877-1896.
- Arakaki, M., Christin, P., Nyffeler, R., Lendel, A., Eggli, U., Ogburn, R., Spriggs, E., Moore, M., y Edwards, E. (2011). Contemporaneous y recent radiations of the world's major succulent plant lineages. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(20), 8379-8384.
- Arias, S. (2009). La familia Cactaceae. En: Lot, A. Z. Cano-Santana (eds.), *Biodiversidad del ecosistema del Pedregal de San Ángel* (pp. 135-141). D.F., México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Arias, S., Gama-López, S., Guzmán-Cruz, L. y Vásquez-Benítez, B. (2012). *Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán*. Fascículo 95 Cactaceae Juss (2a ed). México: Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Arriaga, L., Espinoza, J., Aguilar C., Martínez, E., Gómez, L. y Loa E. (2000). *Regiones terrestres prioritarias de México*. México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Atkinson, J., Rasmussen, A., Traini, R., Voß, U., Sturrock, C., Mooney, S., Wells, D. y Bennett, M. (2014). Branching Out in Roots: Uncovering Form, Function, and Regulation. *Plant Physiology*, 166(2): 538-550.
- Bao, Y., Aggarwal, P., Robbins, N., Sturrock, C., Thompson, M., Tan, H., Tham, C., Duan, L., Rodriguez, P., Vernoux, T., Mooney, S., Bennett, M., y Dinneny, J. (2014). Plant roots use a patterning mechanism to position lateral root branches toward available water. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(25): 9319-9324
- Benítez-Rodríguez, J., Orozco-Segovia, A., y Rojas-Aréchiga, M. (2004). Light effect on seed germination of four *Mammillaria* species from the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Central Mexico. *The Southwestern Naturalist*, 49(1): 11-17.
- Boke, N. (1979). Root glochids and root spurs of *Opuntia arenaria* (Cactaceae). *American Journal of Botany*, 66: 1085-1092.
- Bonser, A., Lynch, J. y Snapp, S. (1996), Effect of phosphorus deficiency on growth angle of basal roots in *Phaseolus vulgaris*. *New Phytologist*, 132: 281-288.

- Bravo-Hollis Helia y Sánchez Mejorada H. (1991). *Las Cactáceas de México*. Vol. III. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Bravo-Hollis, H. 1978. *Las cactáceas de México*. Vol. I. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Cenizo, V., Mazzola, M., Corró, M. y Kin, A. (2013) Características morfológicas y anatómicas de las plántulas de *Trichocereus candicans* (Cactácea). *Boletín de la sociedad Argentina de Botánica*, 48(3-4): 443-451.
- Cervantes, C. (2012). Reintroducción de *Mammillaria haageana* subsp. *san-angelensis* (Cactaceae) en la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Colchado, G. (2019). A linear model to describe branching and allometry in root architecture. (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Colchado-López, J., Cervantes, R. y Rosas, U. (2019). A linear model to describe branching and allometry in root architecture. *Plants (Basel, Switzerland)*, 8(7): 218.
- De Smet, S., Cuypers, A., Vangronsveld, J., y Remans, T. (2015). Gene networks involved in hormonal control of root development in *Arabidopsis thaliana*: A framework for studying its disturbance by metal stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(8): 19195-19224.
- De-Jesús-García, R., Rosas, U., y Dubrovsky, J. (2020). The barrier function of plant roots: Biological bases for selective uptake and avoidance of soil compounds. *Functional Plant Biology*, 47(5): 383-397.
- Dolan, L., Janmaat, K., Willemsen, V., Linstead, P., Poethig, S., Roberts, K. y Scheres, B. (1993) Cellular organisation of the *Arabidopsis thaliana* root. *Development*, 119: 71-84.
- Dubrovsky, J. y Gómez-Lomelí, L. (2003). Water deficit accelerates determinate developmental program of the primary root and does not affect lateral root initiation in a Sonoran Desert cactus (*Pachycereus pringlei*, Cactaceae). *American Journal of Botany*, 90: 823-831
- Dubrovsky, J. (1997a) Determinate primary root growth in *Stenocereus gummosus* (Cactaceae). En Altman A., Waisel Y., (eds). *Biology of root formation and development* (pp. 13-20). New York: Plenum Publishing Corporation.
- Dubrovsky, J. (1997b). Determinate primary-root growth in seedlings of Sonoran Desert Cactaceae; its organization, cellular basis, and ecological significance. *Planta*, 203: 85-92.
- Dubrovsky, J. y Forde, B. (2012). Quantitative analysis of lateral root development: Pitfalls and how to avoid them. *The Plant Cell*, 24: 4-14.
- Dubrovsky, J., Gambetta, G., Hernández-Barrera, A., Shishkova, S. y González, I. (2006). Lateral root initiation in *Arabidopsis*: developmental window, spatial patterning, density and predictability. *Annals of botany*, 97(5): 903-915.
- Esau K. (1977). *Anatomy of Seed Plants*. New York: Wiley & Sons.

- Eysholdt-Derzsó, E. y Sauter, M. (2019). Hypoxia and the group VII ethylene response transcription factor HRE2 promote adventitious root elongation in *Arabidopsis*. *Plant Biology*, 21: 103-108.
- Garrett, T., Huynh, C. y North, G. (2010). Root contraction helps protect the "living rock" cactus *Ariocarpus fissuratus* from lethal high temperatures when growing in rocky soil. *American journal of botany*, 97(12), 1951-1960.
- Gibson, A. y Nobel, P. (1986). *The cactus primer*. Massachusetts: Harvard University Press.
- Gifford, M., Banta, J., Katari, M., Hulsmans, J., Chen, L., Ristova, D., Tranchina, D., Purugganan, M., Coruzzi, G. y Birnbaum, K. (2013). Plasticity regulators modulate specific root traits in discrete nitrogen environments. *PLoS Genetics*, 9 (9): e1003760.
- González, J. (2019). Caracterización del desarrollo temprano de la raíz en especies del género *Mammillaria* (Cactaceae). (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Granados, D., Hernández, M. y Florencia, G. (2012). *Ecología de los desiertos del mundo*. México: Universidad Autónoma de Chapingo.
- Gruber, B., Giehl, R., Friedel, S. y von Wirén, N. (2013). Plasticity of the *Arabidopsis* root system under nutrient deficiencies. *Plant physiology*, 163(1): 161-179.
- Guzmán, U., Arias, S. y Dávila, P. (2003). *Catálogo de Cactáceas*. México: Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Haustein, E. (1988). *The cactus handbook*. New Jersey: Chartwell books.
- Hemenway, A. y Breazeale, L. (1935). A study of *Neomammillaria macdougalii* (Rose). *American Journal of Botany*, 22: 493-499.
- Hernández, H. y Gómez-Hinostrosa, C. (2015). *Mapping the cacti of Mexico. Part II. Mammillaria*. England: Dh Books.
- Hodson, M. y Bryant, J. (2012). *Functional biology of plants*. ProQuest Ebook Central <https://ebookcentral.proquest.com>
- Hunt, H. (2006). *The new cactus lexicon*. England: Dh Books.
- INEGI. (2009). Prontuario de información municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Acultzingo, Veracruz de Ignacio de la Llave. Recuperado el 5 de junio, 2020 de: http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/30/30006.pdf
- Instituto de Biología. (2020). Jardín Botánico. Recuperado el 6 de junio, 2020 de: <http://www.ib.unam.mx/jardin/comoadop/>

- Kugler, I. (1951) Untersuchungen über das Keimverhalten einiger Rassen von *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Ein Beitrag zum Problem der Lichtkeimung, *Beiträge zur Biologie der Pflanzen*, 28: 211-243.
- Laibach, F. (1951). Über Sommer und Winterannuelle Rasse von *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Ein Beitrag zur Atiologie der Blütenbildung. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen*, 28: 173-210.
- López-Bucio, J., Hernández-Abreu, E., Sánchez-Calderón, L., Nieto-Jacobo, M., Simpson, J. y Herrera-Estrella, L. (2002). Phosphate availability alters architecture and causes changes in hormone sensitivity in the *Arabidopsis* root system. *Plant physiology*, 129(1): 244-256.
- Lot, A., Pérez-Escobedo, M., Gil-Alarcón, G., Rodríguez-Palacios, S. y Camarena, P. (2012). *La Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel: Atlas de riesgos*. México: Universidad Nacional Autónoma de México, Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel.
- Loza-Cornejo, S., y Terrazas, T. (2011). Morfo-anatomía de plántulas en especies de Pachycereae: ¿Hasta cuándo son plántulas? *Botanical Sciences*, 88: 1-13.
- Lynch, J. (1995). Root architecture and plant productivity. In *Plant Physiology*. 109 (1): 7-13.
- Lynch, J. (2011). Root Phenotypes for Enhanced Soil Exploration and Phosphorus Acquisition: Tools for Future Crops. *Plant Physiology*, 156(3): 1041-1049.
- Lynch, J., Chimungu, J. y Brown, K. (2014). Root anatomical phenotypes associated with water acquisition from drying soil: Targets for crop improvement. *Journal of Experimental Botany*, 65(21): 6155-6166.
- Malamy, J. y Benfey, P. (1997). Organization and cell differentiation in lateral roots of *Arabidopsis thaliana*. *Development*, 124: 33-44.
- Mandujano, M., Flores-Martínez, A., Golubov, J. y Ezcurra, E. (2002). Spatial distribution of three globose cacti in relation to different nurse-plant canopies and bare areas. *Southwestern Naturalist*, 47(2): 162-168.
- Martínez-Berdeja, A., & Valverde, T. (2008). Growth response of three globose cacti to radiation and soil moisture: An experimental test of the mechanism behind the nurse effect. *Journal of Arid Environments*, 72(10): 1766-1774.
- Martínez-Vázquez, O. y Rubluo, A. (1989). In vitro mass propagation of the near-extinct *Mammillaria san-angelensis*. *Journal of Horticultural Science*, 65(1): 99-105.
- Maya-García, R., Arizaga, S., Cuevas-Reyes, P., Peñaloza-Ramírez, J., Ramírez, V., y Oyama, K. (2016). Landscape genetics reveals inbreeding and genetic bottlenecks in the extremely rare short-globose cacti *Mammillaria pectinifera* (Cactaceae) as a result of habitat fragmentation. *Plant diversity*, 39(1): 13-19.
- Miguel, M., Postma, J. y Lynch, J. (2015). Phenotype synergism between root hair length and basal root growth angle for phosphorus acquisition. *Plant Physiology*. 167(4): 1430-1439.
- Miller, C., Ochoa, I., Nielsen, K., Beck, D. y Lynch, J. (2003). Genetic variation for adventitious rooting in response to low phosphorus availability: Potential utility for phosphorus acquisition from stratified soils. *Functional Plant Biology*, 30(9): 973-985.

- Ortega, E. y Collazo, M. (2013). Tema VIII. Nutrición mineral. Capítulo II. Absorción y traslocación de nutrimentos. En: Márquez- Guzmán J, Collazo-Ortega M, Martínez-Gordillo M, Orozco-Segovia A, Vázquez-Santana S, eds. *Biología de Angiospermas* (pp. 275-282). México: Prensas de la Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Osorio, B., Valiente-Banuet, A., Dávila, P. y Medina, R. (1996). Tipos de vegetación y diversidad β en el Valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 59: 35-58.
- Paez-Garcia A., Motes, C., Scheible, W., Chen, R., Blancaflor, E. y Monteros, M. 2015. Root traits and phenotyping strategies for plant improvement. *Plants*, 4(2): 334-55.
- Palomino, G., Dolezel, J., Cid., R., Brunner. I., Méndez, I. y Rubluo, A. (1999). Nuclear genome stability of *Mammillaria san-angelensis* (Cactaceae) regenerants induced by auxins in long term *in vitro* culture. *Plant Science*, 141, 191-200.
- Parrada, D. (2004). Estudio comparativo de las estructuras reproductoras de *Mammillaria san-angelensis* Sanchez-Mejorada y *Mammillaria haageana* Pfeiffer (Cactaceae). (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Peters, E., Martorell, C. y Ezcurra, E. (2008). Nurse rocks are more important than nurse plants in determining the distribution and establishment of globose cacti (*Mammillaria*) in the Tehuacán Valley, Mexico. *Journal of Arid Environments*, 72(5): 593-601.
- R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
- Ristova, D., Rosas, U., Krouk, G., Ruffel, S., Birnbaum, K. y Coruzzi, G. (2013). RootScape: A landmark-based system for rapid screening of root architecture in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 161(3): 1086-1096.
- Rivera, J., Flores, N., Vargas, A., Alcántara, G., Cházaro, M. y García, J. (2019). Flora y vegetación de la región semiárida de Acultzingo-Maltrata, Veracruz, México. *Acta Botánica Mexicana*, 126: e1433.
- Rodriguez-Alonso, G., Matvienko, M., López-Valle, M., Lázaro-Mixteco, P., Napsucialy-Mendivil, S., Dubrovsky, J. y Shishkova, S. (2018). Transcriptomics insights into the genetic regulation of root apical meristem exhaustion and determinate primary root growth in *Pachycereus pringlei* (Cactaceae). *Scientific Reports*, 8(1): 8529.
- Rojas-Aréchiga, M. y Vázquez-Yanes, C. (2000). Cactus seed germination: A review. *Journal of Arid Environments*, 44: 85-104.
- Rosas, U., Cibrian-Jaramillo, A., Ristova, D., Banta, J., Gifford, M., Fan, A., Zhou, R., Kim, G., Krouk, G., Birnbaum, K., Purugganan, M. y Coruzzi, G. (2013). Integration of responses within and across *Arabidopsis* natural accessions uncovers loci controlling root systems architecture. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110 (37): 15133-15138.
- Rosas, U., Lara-González, J., De-la-Rosa-Tilapa, A. y Terrazas, T. Persistent adventitious and basal root development during salt stress tolerance in *Echinocactus platyacanthus* (Cactaceae) seedlings. *En preparación*.

Rubio, G. y Lynch, J. (2007) Compensation among root classes in *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Soil*, 290: 307-321.

Sánchez-Mejorada, H. 1981. Un nombre nuevo para una cactácea del Anáhuac. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*, 25(1): 6-9.

SEMARNAT. (2010). Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación. México.

SEMARNAT. (2013). Programa de Manejo Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán. México: Secretaría de Medio ambiente y Recursos Naturales, Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas.

SEMARNAT. (2018). El área natural protegida Tehuacán-Cuicatlán ya es patrimonio de la humanidad. Recuperado el 31 de enero, 2020 de: <https://www.gob.mx/semarnat/prensa/el-area-natural-protegida-tehuacan-cuicatlán-ya-es-patrimonio-de-la-humanidad-163342?idiom=es>

Servicio Meteorológico NacionalMNI. (2020). Normales climatológicas por estado. Recuperado el 5 de junio, 2020 de: <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/informacion-climatologica/normales-climatologicas-por-estado>

Shimizu, A., Yanagihara, S., Kawasaki, S. e Ikehashi, H. (2004). Phosphorus deficiency-induced root elongation and its QTL in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 109: 1361-1368.

Shishkova, S., Las Peñas, M., Napsucialy-Mendivil, S., Matvienko, M., Kozik, A., Montiel, J., Patiño, A. y Dubrovsky, J. (2013). Determinate primary root growth as an adaptation to aridity in Cactaceae: Towards an understanding of the evolution and genetic control of the trait. *Annals of Botany*, 112(2): 239-252.

Siebe, C. 2000. Age and archaeological implications of Xitle volcano, southwestern Basin of Mexico-City. *Journal of Volcanology and Geothermal Research*, 104(1): 45-64

Silva-Navas, J., Moreno-Risueno, M., Manzano, C., Pallero-Baena, M., Navarro-Neila, S., Téllez-Robledo, B., Garcia-Mina, J., Baigorri, R., Gallego, F. y Del Pozo, J. (2015). D-Root: A system for cultivating plants with the roots in darkness or under different light conditions. *Plant Journal*, 84: 244-255.

Snyman, H. (2014) Influence of Water Stress on Root Development of *Opuntia ficus-indica* and *O. robusta*. *Arid Land Research and Management*, 28(4): 447-463.

Solórzano, S., Cuevas-Alducin, P., García-Gómez, V. y Dávila, P. (2014). Genetic diversity and conservation of *Mammillaria huitzilopochtli* and *M. supertexta*, two threatened species endemic of the semiarid region of central Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85: 565-575.

- Tello, C. (2019). *Plant genes, genomes, and genetics*. Oakville, Canada: Delve Publishing.
- Valiente-Banuet, A., Bolongaro-Crevenna, A., Briones, O., Ezcurra, E., Rosas, M., Nuñez, H., Barnard, G. y Vazquez, E. (1991). Spatial relationships between cacti and nurse shrubs in a semi-arid environment in central Mexico. *Journal of Vegetation Science*, 2(1): 15-20.
- Vaughn, L. y Masson, P. (2011). A QTL Study for Regions Contributing to *Arabidopsis thaliana* Root Skewing on Tilted Surfaces. *G3 (Bethesda, Md.)*, 1(2): 105-115.
- Verbelen, J., De Cnodder, T., Le, J., Vissenberg, K. y Baluska, F. (2006). The root apex of *Arabidopsis thaliana* consists of four distinct zones of growth activities: meristematic zone, transition zone, fast elongation zone and growth terminating zone. *Plant signaling & behavior*, 1(6): 296-304.
- Villaseñor, J. (2016). Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87(3): 559-902.
- Walk, T., Jaramillo, R. y Lynch, J. (2006). Architectural tradeoffs between adventitious and basal roots for phosphorus acquisition. *Plant and Soil*, 279: 347-366.
- Wang, L., Liao, H., Yan, X., Zhuang, B. y Dong, Y. (2004). Genetic variability for root hair traits as related to phosphorus status in soybean. *Plant and Soil*, 261: 77-84.
- Wilczek, A., Cooper, M., Korves, T. y Schmitt, J. (2014). Lagging adaptation to warming climate in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111 (22): 7906-7913.
- Zlotnik, A. y Ponce, M. 2013. Tema II. Cuerpo primario de la planta. Capítulo II. La raíz. En: Márquez-Guzmán J, Collazo-Ortega M, Martínez-Gordillo M, Orozco-Segovia A, Vázquez-Santana S, eds. *Biología de Angiospermas* (pp. 28-29). México: Prensas de la Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

Anexos

Anexo 1. Semillas colectadas en campo. El asterisco (*) indica las semillas que fueron utilizadas para los experimentos de siembra.

Subespecie	Accesión	Planta	No. de fruto	Fecha de colecta	No. se semillas	Semillas utilizadas
<i>haageana</i>	CC20	P011	1	15/05/2017	20	*
<i>haageana</i>	CC20	P012	1	15/05/2017	14	*
<i>haageana</i>	CC20	P013	1	15/05/2017	3	*
<i>haageana</i>	CC20	P013	2	15/05/2017	10	*
<i>haageana</i>	CC021	P011	1	15/05/2017	4	*
<i>haageana</i>	CC021	P012	1	15/05/2017	1	*
<i>haageana</i>	CC021	P012	2	15/05/2017	14	*
<i>meissneri</i>	CC023	P001	1	16/05/2017	52	*
<i>meissneri</i>	CC023	P001	2	16/05/2017	49	
<i>meissneri</i>	CC023	P011	1	16/05/2017	20	*
<i>meissneri</i>	CC023	P011	2	16/05/2017	27	*
<i>meissneri</i>	CC023	P012	1	16/05/2017	13	*
<i>meissneri</i>	CC023	P013	1	16/05/2017	27	*
<i>meissneri</i>	CC023	P014	1	16/05/2017	5	*
<i>meissneri</i>	CC023	P014	2	16/05/2017	10	*
<i>meissneri</i>	CC023	P014	3	16/05/2017	9	
<i>meissneri</i>	CC023	P014	4	16/05/2017	16	*
<i>meissneri</i>	CC023	P014	5	16/05/2017	6	
<i>meissneri</i>	CC023	P014	6	16/05/2017	31	*
<i>meissneri</i>	CC023	P015	1	16/05/2017	27	*
<i>meissneri</i>	CC023	P015	2	16/05/2017	10	
<i>meissneri</i>	CC023	P016	1	16/05/2017	18	*
<i>meissneri</i>	CC023	P017	1	16/05/2017	7	*
<i>meissneri</i>	CC024	P001	1	16/05/2017	12	
<i>meissneri</i>	CC024	P011	1	16/05/2017	25	*
<i>meissneri</i>	CC024	P012	1	16/05/2017	41	
<i>meissneri</i>	CC024	P013	1	16/05/2017	20	*
<i>meissneri</i>	CC024	P013	2	16/05/2017	20	*
<i>meissneri</i>	CC024	P014	1	16/05/2017	19	
<i>meissneri</i>	CC024	P015	1	16/05/2017	16	*
<i>meissneri</i>	CC024	P015	2	16/05/2017	22	
<i>meissneri</i>	CC024	P016	1	16/05/2017	12	*
<i>meissneri</i>	CC024	P017	1	16/05/2017	33	
<i>meissneri</i>	CC024	P018	1	16/05/2017	16	
<i>meissneri</i>	CC024	P019	1	16/05/2017	15	*
<i>meissneri</i>	CC024	P020	1	16/05/2017	29	

Anexo 1 (continuación)						
<i>meissneri</i>	CC024	P020	2	16/05/2017	20	
<i>meissneri</i>	CC024	P020	3	16/05/2017	13	*
<i>meissneri</i>	CC024	P021	1	16/05/2017	17	*
<i>meissneri</i>	CC024	P022	1	16/05/2017	17	
<i>meissneri</i>	CC024	P023	1	16/05/2017	22	*
<i>meissneri</i>	CC024	P024	1	16/05/2017	9	
<i>meissneri</i>	CC024	P025	1	16/05/2017	27	
<i>meissneri</i>	CC024	P026	1	16/05/2017	5	
<i>meissneri</i>	CC024	P027	1	16/05/2017	19	
<i>meissneri</i>	CC024	P028	1	16/05/2017	34	
<i>meissneri</i>	CC024	P029	1	16/05/2017	29	
<i>meissneri</i>	CC024	P030	1	16/05/2017	32	
<i>meissneri</i>	CC024	P031	1	16/05/2017	24	
<i>meissneri</i>	CC024	P032	1	16/05/2017	17	*
<i>meissneri</i>	CC024	P032	2	16/05/2017	23	
<i>meissneri</i>	CC024	P032	3	16/05/2017	26	
<i>meissneri</i>	CC024	P033	1	16/05/2017	24	*
<i>meissneri</i>	CC024	P034	1	16/05/2017	22	*
<i>meissneri</i>	CC024	P035	1	16/05/2017	34	*
<i>meissneri</i>	CC024	P036	1	16/05/2017	28	
<i>meissneri</i>	CC024	P037	1	16/05/2017	29	
<i>meissneri</i>	CC024	P038	1	16/05/2017	11	
<i>meissneri</i>	CC024	P038	2	16/05/2017	16	*
<i>meissneri</i>	CC024	P038	3	16/05/2017	8	
<i>meissneri</i>	CC024	P039	1	16/05/2017	24	*
<i>meissneri</i>	CC024	P040	1	16/05/2017	11	*
<i>meissneri</i>	CC024	P041	1	16/05/2017	6	
<i>meissneri</i>	CC024	P042	1	16/05/2017	20	
<i>meissneri</i>	CC024	P043	1	16/05/2017	28	
<i>meissneri</i>	CC024	P044	1	16/05/2017	24	
<i>meissneri</i>	CC025	P001	1	16/05/2017	7	*
<i>meissneri</i>	CC025	P001	2	16/05/2017	8	*
<i>meissneri</i>	CC025	P005	1	16/05/2017	35	
<i>meissneri</i>	CC025	P005	2	16/05/2017	30	*
<i>meissneri</i>	CC025	P011	1	16/05/2017	21	
<i>meissneri</i>	CC025	P011	2	16/05/2017	12	*
<i>meissneri</i>	CC025	P011	3	16/05/2017	18	*
<i>meissneri</i>	CC025	P011	4	16/05/2017	11	
<i>meissneri</i>	CC025	P012	1	16/05/2017	11	
<i>meissneri</i>	CC025	P012	2	16/05/2017	14	*

Anexo 1 (continuación)						
<i>meissneri</i>	CC025	P013	1	16/05/2017	17	
<i>meissneri</i>	CC025	P014	1	16/05/2017	27	*
<i>meissneri</i>	CC025	P015	1	16/05/2017	25	*
<i>meissneri</i>	CC025	P015	2	16/05/2017	28	
<i>meissneri</i>	CC025	P015	3	16/05/2017	29	
<i>meissneri</i>	CC025	P016	1	16/05/2017	38	*
<i>meissneri</i>	CC025	P017	1	16/05/2017	13	*
<i>meissneri</i>	CC025	P018	1	16/05/2017	44	*
<i>meissneri</i>	CC025	P018	2	16/05/2017	42	
<i>meissneri</i>	CC025	P018	3	16/05/2017	42	
<i>meissneri</i>	CC025	P018	4	16/05/2017	42	
<i>meissneri</i>	CC025	P019	1	16/05/2017	17	
<i>meissneri</i>	CC025	P019	2	16/05/2017	13	
<i>meissneri</i>	CC025	P019	3	16/05/2017	14	
<i>meissneri</i>	CC025	P019	4	16/05/2017	14	
<i>meissneri</i>	CC025	P020	1	16/05/2017	8	
<i>meissneri</i>	CC025	P020	2	16/05/2017	25	*
<i>meissneri</i>	CC025	P020	3	16/05/2017	22	
<i>meissneri</i>	CC025	P020	4	16/05/2017	5	
<i>meissneri</i>	CC025	P020	5	16/05/2017	18	
<i>meissneri</i>	CC025	P020	6	16/05/2017	18	
<i>meissneri</i>	CC025	P020	7	16/05/2017	17	
<i>meissneri</i>	CC025	P021	1	16/05/2017	12	*
<i>meissneri</i>	CC025	P021	2	16/05/2017	14	
<i>meissneri</i>	CC026	P011	1	16/05/2017	10	
<i>meissneri</i>	CC026	P001	1	22/05/2017	5	
<i>conspicua</i>	CC027	P001	1	17/05/2017	20	*
<i>conspicua</i>	CC027	P005	1	22/05/2017	20	
<i>conspicua</i>	CC027	P005	2	22/05/2017	21	*
<i>conspicua</i>	CC027	P011	1	17/05/2017	35	
<i>conspicua</i>	CC027	P011	2	17/05/2017	26	*
<i>conspicua</i>	CC027	P011	3	17/05/2017	25	*
<i>conspicua</i>	CC027	P012	1	17/05/2017	13	
<i>conspicua</i>	CC027	P012	2	17/05/2017	28	*
<i>conspicua</i>	CC027	P012	3	17/05/2017	31	
<i>conspicua</i>	CC027	P012	4	17/05/2017	9	
<i>conspicua</i>	CC027	P013	1	17/05/2017	42	
<i>conspicua</i>	CC027	P013	2	17/05/2017	31	
<i>conspicua</i>	CC027	P013	3	17/05/2017	24	*
<i>conspicua</i>	CC027	P014	1	17/05/2017	31	*

Anexo 1 (continuación)						
<i>conspicua</i>	CC027	P014	2	17/05/2017	41	
<i>conspicua</i>	CC027	P015	1	17/05/2017	14	*
<i>conspicua</i>	CC027	P016	1	17/05/2017	78	*
<i>conspicua</i>	CC027	P017	1	17/05/2017	7	*
<i>conspicua</i>	CC027	P018	1	17/05/2017	14	*
<i>conspicua</i>	CC027	P019	1	17/05/2017	9	
<i>conspicua</i>	CC027	P019	2	17/05/2017	15	*
<i>conspicua</i>	CC028	P002	1	22/05/2017	12	
<i>conspicua</i>	CC028	P004	1	22/05/2017	36	*
<i>conspicua</i>	CC028	P005	1	22/05/2017	60	*
<i>conspicua</i>	CC028	P011	1	17/05/2017	19	
<i>conspicua</i>	CC028	P011	2	17/05/2017	29	
<i>conspicua</i>	CC028	P011	3	17/05/2017	32	*
<i>conspicua</i>	CC028	P011	4	17/05/2017	32	
<i>conspicua</i>	CC028	P011	5	17/05/2017	28	
<i>conspicua</i>	CC028	P011	6	17/05/2017	31	
<i>conspicua</i>	CC028	P011	7	17/05/2017	21	
<i>conspicua</i>	CC028	P012	1	17/05/2017	38	*
<i>conspicua</i>	CC028	P012	2	17/05/2017	36	
<i>conspicua</i>	CC028	P012	3	17/05/2017	40	
<i>conspicua</i>	CC028	P013	1	17/05/2017	38	*
<i>conspicua</i>	CC028	P013	2	17/05/2017	40	
<i>conspicua</i>	CC028	P013	3	17/05/2017	40	
<i>conspicua</i>	CC028	P014	1	17/05/2017	15	
<i>conspicua</i>	CC028	P014	2	17/05/2017	11	*
<i>conspicua</i>	CC028	P014	3	17/05/2017	19	
<i>conspicua</i>	CC028	P015	1	17/05/2017	10	
<i>conspicua</i>	CC028	P015	2	17/05/2017	11	*
<i>conspicua</i>	CC028	P015	3	17/05/2017	10	
<i>conspicua</i>	CC028	P016	1	17/05/2017	39	*
<i>conspicua</i>	CC028	P017	1	17/05/2017	30	*
<i>conspicua</i>	CC028	P018	1	17/05/2017	25	*
<i>conspicua</i>	CC028	P019	1	17/05/2017	36	*
<i>conspicua</i>	CC028	P020	1	17/05/2017	11	*
<i>conspicua</i>	CC028	P021	1	17/05/2017	12	*
<i>conspicua</i>	CC028	P022	1	17/05/2017	66	*
<i>conspicua</i>	CC028	P023	1	17/05/2017	22	*
<i>meissneri</i>	CC030	P001	1	9/30/2017	15	*
<i>meissneri</i>	CC030	P011	1	9/30/2017	31	*
<i>meissneri</i>	CC030	P011	2	9/30/2017	26	*

Anexo 1 (continuación)						
<i>meissneri</i>	CC030	P011	3	9/30/2017	55	*
<i>meissneri</i>	CC030	P011	4	9/30/2017	24	*
<i>meissneri</i>	CC030	P011	5	9/30/2017	5	*
<i>meissneri</i>	CC030	P018	1	9/30/2017	25	*
<i>meissneri</i>	CC030	P018	2	9/30/2017	25	*
<i>meissneri</i>	CC031	P012	1	9/30/2017	12	*
<i>meissneri</i>	CC031	P013	1	9/30/2017	22	*
<i>meissneri</i>	CC031	P014	1	9/30/2017	14	*
<i>meissneri</i>	CC031	P015	1	9/30/2017	20	*
<i>meissneri</i>	CC031	P016	1	9/30/2017	7	*
<i>meissneri</i>	CC031	P017	1	9/30/2017	24	*
<i>meissneri</i>	CC031	P036	1	9/30/2017	9	
<i>meissneri</i>	CC031	P036	2	9/30/2017	20	
<i>meissneri</i>	CC031	P036	3	9/30/2017	12	
<i>meissneri</i>	CC031	P036	4	9/30/2017	14	
<i>meissneri</i>	CC031	P036	5	9/30/2017	9	
<i>meissneri</i>	CC031	P036	6	9/30/2017	22	
<i>meissneri</i>	CC031	P036	7	9/30/2017	8	
<i>meissneri</i>	CC031	P036	8	9/30/2017	17	*
<i>meissneri</i>	CC031	P037	1	9/30/2017	24	*
<i>meissneri</i>	CC031	P038	1	9/30/2017	24	*
<i>meissneri</i>	CC031	P039	1	9/30/2017	20	*
<i>meissneri</i>	CC031	P040	1	9/30/2017	20	*
<i>meissneri</i>	CC031	P041	1	9/30/2017	13	*
<i>meissneri</i>	CC031	P041	2	9/30/2017	7	*
<i>meissneri</i>	CC032	P009	1	9/30/2017	19	*
<i>meissneri</i>	CC032	P011	1	9/30/2017	16	*
<i>meissneri</i>	CC032	P011	2	9/30/2017	26	
<i>meissneri</i>	CC032	P011	3	9/30/2017	22	
<i>meissneri</i>	CC032	P011	4	9/30/2017	23	
<i>meissneri</i>	CC032	P017	1	9/30/2017	18	
<i>meissneri</i>	CC032	P017	2	9/30/2017	23	*
<i>meissneri</i>	CC032	P018	1	9/30/2017	11	*
<i>meissneri</i>	CC032	P018	2	9/30/2017	18	
<i>meissneri</i>	CC032	P019	1	9/30/2017	12	*
<i>meissneri</i>	CC032	P019	2	9/30/2017	10	
<i>meissneri</i>	CC032	P020	1	9/30/2017	24	*
<i>meissneri</i>	CC032	P021	1	9/30/2017	34	
<i>meissneri</i>	CC032	P021	2	9/30/2017	12	*
<i>meissneri</i>	CC032	P021	1	9/30/2017	16	

Anexo 1 (continuación)						
<i>meissneri</i>	CC032	P022	1	9/30/2017	28	*
<i>meissneri</i>	CC032	P023	1	9/30/2017	24	
<i>meissneri</i>	CC032	P023	2	9/30/2017	11	*
<i>meissneri</i>	CC032	P024	1	9/30/2017	19	*
<i>meissneri</i>	CC032	P024	2	9/30/2017	21	
<i>meissneri</i>	CC032	P025	1	9/30/2017	30	*
<i>meissneri</i>	CC032	P026	1	9/30/2017	13	*
<i>meissneri</i>	CC032	P027	1	9/30/2017	27	*
<i>meissneri</i>	CC032	P028	1	9/30/2017	14	*
<i>meissneri</i>	CC032	P029	1	9/30/2017	15	*
<i>conspicua</i>	CC035	P011	1	10/1/2017	45	*
<i>conspicua</i>	CC035	P011	2	10/1/2017	15	*
<i>conspicua</i>	CC038	P011	1	10/1/2017	5	*
<i>conspicua</i>	CC038	P011	2	10/1/2017	8	*
<i>conspicua</i>	CC038	P011	3	10/1/2017	5	*
<i>conspicua</i>	CC038	P012	1	10/1/2017	12	*
<i>conspicua</i>	CC038	P012	2	10/1/2017	10	*
<i>conspicua</i>	CC038	P012	3	10/1/2017	17	*
<i>conspicua</i>	CC038	P013	1	10/1/2017	15	*
<i>conspicua</i>	CC038	P014	1	10/1/2017	13	*
<i>conspicua</i>	CC038	P015	1	10/1/2017	17	*
					Total 4,573 semillas	

Anexo 2. Semillas colectadas en invernadero. El asterisco (*) indica las semillas que fueron utilizadas para los experimentos de siembra.

Subespecie	Accesión	Planta	No. de fruto	Fecha de colecta	No. de semillas	Semillas utilizadas
<i>haageana</i>	CC020	P002	1	23/08/2017	14	*
<i>haageana</i>	CC020	P002	2	23/08/2017	6	*
<i>haageana</i>	CC020	P002	3	23/08/2017	7	*
<i>haageana</i>	CC020	P002	4	23/08/2017	6	*
<i>haageana</i>	CC020	P002	5	23/08/2017	6	
<i>haageana</i>	CC020	P002	1	06/09/2017	27	*
<i>haageana</i>	CC020	P003	1	05/06/2017	2	*
<i>haageana</i>	CC020	P003	1	26/06/2017	12	*
<i>haageana</i>	CC020	P003	1	10/07/2017	13	*
<i>haageana</i>	CC020	P005	1	09/08/2017	11	*
<i>haageana</i>	CC020	P005	1	30/08/2017	12	*
<i>haageana</i>	CC020	P005	2	30/08/2017	12	*

Anexo 2 (continuación)						
haageana	CC020	P005	3	30/08/2017	7	*
haageana	CC020	P005	1	27/09/2017	17	*
haageana	CC020	P005	1	06/09/2017	17	*
haageana	CC020	P006	1	27/09/2017	4	*
haageana	CC020	P006	2	27/09/2017	5	*
haageana	CC020	P006	3	27/09/2017	3	*
haageana	CC020	P006	1	11/10/2017	7	*
haageana	CC021	P001	1	09/08/2017	16	
haageana	CC021	P001	2	09/08/2017	24	*
haageana	CC021	P001	3	09/08/2017	22	
haageana	CC021	P001	4	09/08/2017	5	
haageana	CC021	P001	5	09/08/2017	26	
haageana	CC021	P001	6	09/08/2017	12	
haageana	CC021	P001	7	09/08/2017	24	
haageana	CC021	P001	8	09/08/2017	24	
haageana	CC021	P001	1	23/08/2017	30	*
haageana	CC021	P002	1	09/08/2017	5	
haageana	CC021	P002	2	09/08/2017	10	*
haageana	CC021	P003	1	27/09/2017	7	
haageana	CC021	P003	2	27/09/2017	10	*
haageana	CC021	P004	1	01/08/2017	3	*
haageana	CC021	P004	1	02/08/2017	2	*
haageana	CC021	P005	1	09/08/2017	22	*
haageana	CC021	P005	2	09/08/2017	20	
haageana	CC021	P005	3	09/08/2017	12	
haageana	CC021	P005	4	09/08/2017	24	*
haageana	CC021	P005	5	09/08/2017	17	
haageana	CC021	P005	6	09/08/2017	18	
haageana	CC021	P005	7	09/08/2017	17	
haageana	CC021	P005	8	09/08/2017	8	
haageana	CC021	P005	1	23/08/2017	6	
haageana	CC021	P005	2	23/08/2017	18	
haageana	CC021	P005	3	23/08/2017	2	
haageana	CC021	P005	4	23/08/2017	10	*
haageana	CC021	P005	5	23/08/2017	5	*
haageana	CC021	P005	6	23/08/2017	14	
haageana	CC021	P005	7	23/08/2017	9	
haageana	CC021	P005	8	23/08/2017	16	
haageana	CC021	P005	9	23/08/2017	17	
haageana	CC021	P005	10	23/08/2017	10	

Anexo 2 (continuación)						
haageana	CC021	P005	1	30/08/2017	5	
haageana	CC021	P005	2	30/08/2017	4	
haageana	CC021	P005	3	30/08/2017	10	
haageana	CC021	P005	1	18/09/2017	4	
haageana	CC021	P007	1	10/07/2017	2	
haageana	CC021	P007	1	01/08/2017	9	
haageana	CC021	P007	2	01/08/2017	7	
haageana	CC021	P007	3	01/08/2017	16	*
haageana	CC021	P007	4	01/08/2017	15	*
haageana	CC021	P007	5	01/08/2017	12	
haageana	CC021	P007	6	01/08/2017	5	
haageana	CC021	P007	7	01/08/2017	7	
haageana	CC021	P007	8	01/08/2017	5	
haageana	CC021	P007	9	01/08/2017	16	*
haageana	CC021	P007	10	01/08/2017	6	
haageana	CC021	P007	11	01/08/2017	3	
haageana	CC021	P007	1	09/08/2017	15	*
haageana	CC021	P007	2	09/08/2017	9	
haageana	CC021	P007	1	09/08/2017	14	
haageana	CC021	P007	2	09/08/2017	9	
haageana	CC021	P007	3	09/08/2017	6	
haageana	CC021	P007	4	09/08/2017	4	
haageana	CC021	P007	5	09/08/2017	14	
haageana	CC021	P007	1	23/08/2017	20	
haageana	CC021	P007	2	23/08/2017	6	
haageana	CC021	P008	1	01/08/2017	4	*
haageana	CC021	P008	1	02/08/2017	4	*
haageana	CC021	P008	2	02/08/2017	3	*
haageana	CC021	P008	1	23/08/2017	6	
haageana	CC021	P008	1	06/09/2017	4	
haageana	CC021	P008	2	06/09/2017	2	
haageana	CC022	P002	1	01/08/2017	37	
haageana	CC022	P002	2	01/08/2017	41	*
haageana	CC022	P002	3	01/08/2017	47	*
haageana	CC022	P002	1	09/08/2017	48	*
haageana	CC022	P002	1	23/08/2017	39	
haageana	CC022	P002	2	23/08/2017	41	
haageana	CC022	P002	3	23/08/2017	31	
haageana	CC022	P004	1	23/08/2017	20	*
haageana	CC022	P004	2	23/08/2017	19	

Anexo 2 (continuación)						
<i>haageana</i>	CC022	P004	3	23/08/2017	15	
<i>haageana</i>	CC022	P004	4	23/08/2017	21	*
<i>haageana</i>	CC022	P004	5	23/08/2017	18	
<i>haageana</i>	CC022	P004	6	23/08/2017	19	
<i>haageana</i>	CC022	P004	7	23/08/2017	28	*
<i>haageana</i>	CC022	P004	8	23/08/2017	19	
<i>haageana</i>	CC022	P004	9	23/08/2017	18	
<i>haageana</i>	CC022	P004	10	23/08/2017	18	
<i>haageana</i>	CC022	P004	11	23/08/2017	7	
<i>haageana</i>	CC022	P004	12	23/08/2017	11	
<i>haageana</i>	CC022	P004	13	23/08/2017	13	
<i>haageana</i>	CC022	P004	14	23/08/2017	34	*
					Total 1,443 semillas	

Anexo 3. Pruebas post-hoc LSD de Fisher con $\alpha=0.05$ para cada tipo de raíz en cinco etapas de desarrollo.

Longitud de la RP										
Loc/Día	45		73		101		129		157	
CC020	98.17	d	114.65	c	125.93	bc	130.70	bcd	131.33	bcd
CC021	191.58	a	162.08	ab	148.87	ab	141.03	bc	135.73	bc
CC023	178.33	ab	174.63	ab	183.03	a	185.80	a	183.95	a
CC024	145.48	bc	158.07	ab	146.65	ab	159.40	ab	167.43	ab
CC025	148.44	bc	131.80	bc	121.04	bc	114.11	cd	110.33	cd
CC027	131.72	cd	145.33	abc	148.85	ab	151.41	abc	154.59	ab
CC028	34.43	e	68.60	d	94.23	c	93.07	d	92.47	d
CC031	167.81	abc	169.07	ab	160.83	ab	156.52	ab	154.90	ab
CC032	178.83	ab	165.45	ab	161.03	ab	158.13	ab	160.82	ab
<i>M.h.san</i>	159.95	abc	139.32	abc	136.89	bc	136.50	bcd	134.45	bcd

Longitud de las RL										
Loc/Día	45		73		101		129		157	
CC020	131.12	de	116.08	bc	113.33	cde	111.47	cde	108.32	d
CC021	146.15	bcd	120.78	bc	114.93	cde	119.83	cde	116.40	cd
CC023	130.00	de	144.40	ab	153.87	ab	143.97	bcd	147.00	bc
CC024	179.42	a	177.17	a	171.78	ab	179.98	ab	178.95	ab
CC025	127.96	de	114.20	bc	110.52	de	104.20	de	101.02	d
CC027	124.37	de	143.87	ab	144.85	bcd	148.80	bc	152.04	bc
CC028	114.88	e	146.22	ab	151.60	abc	149.42	bc	150.82	bc
CC031	163.16	abc	180.74	a	186.97	a	178.41	ab	173.33	ab
CC032	172.88	ab	181.60	a	183.67	ab	192.48	a	198.52	a
<i>M.h.san</i>	135.32	cde	89.00	c	80.11	e	83.43	e	86.18	d

nRL										
Loc/Día	45		73		101		129		157	
CC020	134.05	de	131.48	cd	135.60	bcde	145.05	bc	143.77	bc
CC021	145.38	bcd	119.55	de	120.42	def	120.72	cd	119.77	cd
CC023	128.80	de	135.28	cd	133.53	cde	123.23	cd	122.30	cd
CC024	178.03	a	184.32	a	171.63	abc	176.20	ab	177.05	ab
CC025	125.00	de	113.37	de	107.50	ef	93.63	d	90.74	d
CC027	125.00	de	150.76	abcd	152.19	abcd	149.57	abc	145.56	bc
CC028	114.85	e	169.88	bcd	155.27	abcd	155.95	abc	163.78	ab
CC031	163.66	abc	169.88	abc	177.83	a	172.88	ab	169.93	ab
CC032	173.62	ab	177.60	ab	173.98	ab	185.73	a	191.62	a
<i>M.h.san</i>	137.14	cde	87.00	e	85.16	f	89.48	d	86.30	d

Longitud de las RL2								
Loc/Día	73		101		129		157	
CC020	132.20	bc	122.92	cd	104.70	de	114.23	de
CC021	131.80	bc	123.08	cd	125.35	cd	122.13	cde
CC023	138.35	bc	156.18	ab	159.73	abc	166.70	ab
CC024	147.25	abc	152.05	abc	145.38	bc	135.30	bcd
CC025	155.35	ab	149.19	abc	149.19	bc	140.19	bcd
CC027	148.56	abc	136.67	bcd	148.70	bc	157.85	abc
CC028	132.97	bc	132.65	bcd	145.35	bc	138.30	bcd
CC031	153.36	ab	171.00	a	166.24	ab	166.41	ab
CC032	163.60	a	174.62	a	185.02	a	186.20	a
<i>M.h.san</i>	123.50	c	101.50	d	87.50	e	90.73	e

nRL2								
Loc/Día	73		101		129		157	
CC020	132.27	bc	121.48	de	103.32	de	115.17	de
CC021	132.27	bc	123.92	cde	126.23	cd	125.78	cde
CC023	137.62	bc	152.10	abcd	149.73	bc	156.15	abc
CC024	148.22	abc	155.93	abc	150.87	bc	143.85	bcd
CC025	154.65	ab	147.59	abcd	147.46	bc	138.33	bcd
CC027	148.39	abc	139.35	bcd	151.09	bc	160.63	abc
CC028	133.23	bc	133.87	cde	147.47	bc	138.30	bcd
CC031	152.79	ab	169.00	ab	166.07	ab	164.67	ab
CC032	163.90	a	175.15	a	187.48	ab	186.73	a
<i>M.h.san</i>	123.50	c	101.50	e	87.50	e	87.64	e

Longitud de las RA										
Loc/Día	45		73		101		129		157	
CC020	176.70	a	198.98	a	202.05	a	191.28	a	183.03	a
CC021	175.70	a	187.20	a	185.37	ab	187.83	a	182.52	a
CC023	139.27	bc	144.50	b	148.15	bc	142.30	b	146.78	ab
CC024	157.50	ab	138.23	bc	156.53	bc	163.33	ab	164.47	ab
CC025	123.15	c	132.22	bc	128.56	cd	130.22	bc	132.00	bc
CC027	122.22	c	139.78	bc	132.24	cd	138.44	b	143.04	ab
CC028	111.43	c	102.33	c	96.77	de	97.17	cd	96.83	cd
CC031	134.28	bc	105.03	bc	88.66	e	85.00	d	89.07	d
CC032	130.73	bc	134.60	bc	139.55	c	140.63	b	140.77	b
<i>M.h.san</i>	158.91	ab	144.98	b	149.55	bc	152.70	ab	150.64	ab

nRA										
Loc/Día	45		73		101		129		157	
CC020	176.28	ab	215.60	a	221.02	a	220.70	a	218.43	a
CC021	184.03	a	196.32	a	198.98	a	199.50	a	195.78	a
CC023	138.15	cde	126.23	bc	133.98	bc	126.98	bc	128.82	bcd
CC024	152.58	bcd	131.40	bc	146.90	b	150.50	b	155.28	b
CC025	121.83	de	133.37	bc	128.09	bcd	131.70	bc	135.41	bcd
CC027	121.83	de	149.87	b	129.04	bcd	139.19	b	130.81	bcd
CC028	111.45	e	106.07	c	102.07	cd	100.58	cd	106.60	de
CC031	134.62	cde	101.17	c	91.57	d	84.09	d	88.31	e
CC032	129.25	cde	122.58	bc	123.00	bcd	122.45	bc	116.30	cde
<i>M.h.san</i>	159.98	abc	146.70	b	153.57	b	153.68	b	153.16	bc

Longitud de las RB										
Loc/Día	45		73		101		129		157	
CC020	144.22	a	142.10	b	142.03	b	142.00	b	141.50	b
CC021	149.17	a	162.53	a	162.50	a	162.33	a	161.97	a
CC023	139.50	a	133.00	b	133.00	b	133.00	b	132.50	b
CC024	144.15	a	142.33	b	142.30	b	142.33	b	141.90	b
CC025	144.78	a	148.74	ab	149.00	ab	149.11	ab	148.67	ab
CC027	144.70	a	138.15	b	138.07	b	138.07	b	137.59	b
CC028	139.50	a	147.13	ab	147.13	ab	147.07	ab	146.55	ab
CC031	144.45	a	143.00	b	142.97	b	143.03	b	142.53	b
CC032	139.50	a	137.43	b	137.43	b	137.50	b	141.50	b
<i>M.h.san</i>	139.50	a	133.00	b	133.00	b	133.00	b	132.50	b

nRB										
Loc/Día	45		73		101		129		157	
CC020	144.23	a	142.27	b	141.77	bc	142.27	b	141.77	b
CC021	148.97	a	161.75	a	161.30	a	161.75	a	161.30	a
CC023	139.50	a	133.00	b	132.50	c	133.00	b	132.50	b
CC024	144.23	a	142.27	b	141.77	bc	142.27	b	141.77	b
CC025	144.76	a	148.44	ab	147.94	abc	148.44	ab	147.94	ab
CC027	144.76	a	138.15	b	137.65	bc	138.15	b	137.65	b
CC028	139.50	a	147.65	ab	151.82	ab	147.65	ab	147.18	ab
CC031	144.52	a	143.24	ab	142.78	abc	143.24	ab	142.78	ab
CC032	139.50	a	137.63	b	137.13	bc	137.63	b	141.77	b
<i>M.h.san</i>	139.50	a	133.00	b	132.50	c	133.00	b	132.50	b

RT										
Loc/Día	45		73		101		129		157	
CC020	132.37	cd	144.57	bc	158.72	abc	145.60	bcd	138.73	bcd
CC021	200.60	a	184.60	a	169.77	a	162.17	abc	153.33	bc
CC023	161.60	bc	155.77	ab	160.65	abc	150.27	bc	154.23	bc
CC024	171.77	ab	165.03	ab	178.03	a	195.03	a	199.97	a
CC025	131.56	cd	109.28	cd	104.48	d	107.85	de	107.85	de
CC027	115.50	d	129.31	bc	122.41	cd	134.37	bcd	144.37	bcd
CC028	32.60	e	86.77	d	87.40	d	90.87	e	91.10	e
CC031	159.81	bc	154.31	ab	149.62	abc	142.79	bcd	138.86	bcd
CC032	168.03	abc	166.67	ab	165.03	ab	169.67	ab	171.30	ab
<i>M.h.san</i>	156.41	bc	124.36	bcd	122.82	bcd	121.18	cde	120.82	cde