



FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS y NATURALES

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA

TESINA PRESENTADA PARA OBTENER
EL GRADO ACADÉMICO DE
LICENCIADA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

“EFECTOS DE LA LUZ, TEMPERATURA Y DISPONIBILIDAD DE AGUA EN LA
GERMINACION DE *TRICHOCEREUS CANDICANS* (CACTACEAE)”.

Viviana Jorgelina CENIZO

SANTA ROSA (LA PAMPA)

ARGENTINA

2012

1

PREFACIO

Esta Tesina es presentada como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Licenciada en Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional de La Pampa y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad ni en otra institución académica. Se llevó a cabo en el Laboratorio de Ecología Vegetal de la Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de La Pampa, durante el período comprendido entre el 5 de agosto de 2010 y el 23 de mayo de 2012, bajo la dirección de la Dra. Mónica B. Mazzola, del Departamento de Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de La Pampa; y bajo la codirección de la Dra. Alicia G. Kin, de la Cátedra de Fisiología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de La Pampa.

23/05/2012

“FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES”

“UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA”

A mi familia y amigos

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que de un modo u otro hicieron posible la realización de esta Tesis.

A mi directora la Dra. Mónica Mazzola y Co-directora la Dra. Alicia Kin por brindarme sus conocimientos, experiencias, confianza y dedicación que han sido fundamentales para mi formación académica y personal.

A los jurados de esta tesina, la Lic. Bárbara Corro Molas, la Dra. María de los Ángeles Ruiz, y la Dra. Mónica Mazzola por sus sugerencias.

A la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales por el financiamiento y a la Facultad de Agronomía por proporcionarme un lugar donde realizar este trabajo.

A Mabel Yicarean, Carlos Zoratti, Alberto Sosa y Ernesto Morici por su colaboración en las tareas de laboratorio y facilitarme el trabajo.

A Mariela Ambrosino y José María Galea, por ayudarme en los ensayos de laboratorio y muestreos.

Al personal del Parque Nacional Lihue Calel por su gentileza.

A mis compañeros por haber compartido conmigo estos años de carrera de los que conservo los más lindos recuerdos.

A mis amigos, incansables compañeros de aventuras por hacerme comprender que los sueños se pueden hacer realidad si uno se los propone.

A Julio, por ser mi compañero en la vida, por alentarme y acompañarme en todo lo que me propongo.

Por ultimo a mi familia, por el cariño y apoyo incondicional que me brindan día a día, y por acompañarme a lo largo de la carrera. A ellos va dedicado este trabajo.

RESUMEN

La creciente expansión de las actividades antrópicas en regiones áridas y semiáridas afecta a las poblaciones de cactáceas nativas. En nuestro país, la escasa información acerca de la biología de estas especies dificulta la implementación de planes de conservación de las mismas. El objetivo del presente trabajo fue determinar los requerimientos germinativos y el desarrollo de la plántula de *Trichocereus candicans* (Cactaceae), una especie de amplia distribución en la Argentina. Se evaluaron los efectos de la luz, la temperatura y la disponibilidad hídrica sobre la germinación. Además se realizó la caracterización morfo-anatómica de las plántulas en las primeras etapas de su desarrollo. Los resultados mostraron que *T. candicans* requiere temperaturas alrededor de 25°C, luz y alta disponibilidad de humedad para germinar. Esta información acerca de la ecofisiología de la especie será de utilidad en estudios de propagación *ex situ* y podrá utilizarse en planes de manejo y conservación.

ABSTRACT

In arid and semiarid regions, the increasing expansion of human activities affects populations of native cacti. In our country, the limited information about the biology of cacti species constrains the implementation conservation plans. The aim of this study was to determine the germination requirements and seedling development of *Trichocereus candicans* (Cactaceae), a species widely distributed in Argentina. The effects of light, temperature and water availability on germination were assessed. In addition, the morpho-anatomical characterization of the seedlings in the early stages of development was carried out. Results showed that *T. candicans* requires temperatures about 25°C, light and high availability of moisture to germinate. This information about the ecophysiology of *T. candicans* will be useful for *ex situ* propagation, and could be used in management and conservation plans.

INDICE

INTRODUCCIÓN	8
HIPOTESIS	10
OBJETIVOS	10
CAPITULO I. Evaluación de los factores que afectan la germinación de <i>Trichocereus</i> <i>candicans</i> (Gillies) Britton et Rose	11
INTRODUCCIÓN	11
MATERIALES Y MÉTODOS	12
<i>Descripción de la especie</i>	12
<i>Descripción del área de estudio</i>	13
<i>Recolección de semillas</i>	14
<i>Ensayos de germinación</i>	14
<i>Análisis estadístico</i>	17
RESULTADOS	18
<i>Efectos de la temperatura</i>	18
<i>Efecto de la luz</i>	21
<i>Efecto del potencial agua</i>	21
DISCUSIÓN	23
CONCLUSIONES	26
CAPITULO II. Características morfológicas y anatómicas de las plántulas de <i>Trichocereus candicans</i>	27
INTRODUCCIÓN	27
MATERIALES Y MÉTODOS	28
RESULTADOS	29
<i>Morfología y anatomía de las plántulas</i>	29
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	42
CONCLUSIÓN	45
BIBLIOGRAFIA	46

INTRODUCCIÓN

La familia Cactaceae es originaria de América y comprende cuatro subfamilias de plantas perennes: Pereskioideae, Maihuenioidea, Cactoideae y Opuntioideae (Anderson, 2001). La mayor abundancia en géneros y especies se encuentra en México y el segundo centro de diversificación está en Bolivia, Perú y el noroeste de Argentina (Ortega-Baes & Godínez-Álvarez, 2006).

La mayoría de las cactáceas presentan adaptaciones morfológicas y fisiológicas, tales como la transformación de hojas a espinas, la succulencia y el metabolismo fotosintético CAM, que les permiten soportar las condiciones ambientales adversas típicas de los ambientes áridos y semiáridos en los que habitan (Gibson & Nobel, 1986). A nivel del suelo, las semillas y plántulas están expuestas a fluctuaciones diarias y estacionales de temperatura, baja disponibilidad de humedad y, en ocasiones, un alto contenido de sales. Esto ocasiona que el paso de semilla a plántula sea una etapa crítica de su ciclo de vida (Batanouny & Ziegler, 1971; Rojas-Aréchiga, 1995) y se ve reflejado en las bajas tasas de reclutamiento de las especies (Gibson & Nobel, 1986; Flores & Briones, 2001). Los individuos que logran establecerse poseen ciclos de vida largos con tasas de crecimiento lento que condicionan su supervivencia cuando el hábitat es modificado por actividades antrópicas (Nobel, 1988). Como resultado, las amenazas más relevantes para las poblaciones de cactáceas nativas son las actividades agrícola-ganaderas, la deforestación, la introducción de especies exóticas y la construcción de caminos (Oldfield, 1997; Godínez-Álvarez *et al.*, 2003; CITES, 2008). A esto se le suma, la recolección de ejemplares silvestres para su uso como plantas ornamentales (Oldfield, 1997; CITES, 2008). La implementación de planes de manejo y conservación de las poblaciones amenazadas requiere de conocimientos básicos acerca de la ecología y fisiología de las especies. En Sudamérica, esta información es escasa aún en especies muy apreciadas por su valor de conservación y/o utilidad.

Uno de los géneros más conspicuos y representativos en nuestro país es *Trichocereus* (Cactaceae, Cactoideae, Trichocereae), con un total de 25 especies distribuidas en Argentina, Chile y Bolivia (Instituto de Botánica Darwinion, 2011). Las especies de *Trichocereus* se caracterizan por poseer tallos cilíndricos con costillas bajas y flores grandes, con tubo ancho densamente cubierto por pelos. Algunas especies son

columnares grandes, arbóreas, y otras son bajas o rastreras (Kiesling & Ferrari, 2005). En varias regiones de Argentina, las cactáceas como *T. pasacana*, *T. terscheckii* y *T. tarijensis* constituyen un importante recurso maderero, sus frutos son comestibles y en época de escasez sirven como reservorio de agua y forraje para los animales (Kiesling, 1978). Por otra parte, el gran valor escénico e interés científico de algunas especies condujo a la creación de reservas naturales para protegerlas, como es el caso del Parque Nacional “Los Cardones” en la provincia de Salta.

Desde hace algunos años se ha popularizado en nuestro país el comercio de cactáceas como ornamentales. En muchas ocasiones, la procedencia de los ejemplares disponibles para la venta es dudosa y se estima podrían haber sido saqueados de su hábitat natural. *Trichocereus candicans* (Gillies) Britton et Rose, es una especie de amplia distribución en nuestro país que no escapa a esta problemática. Hasta el momento existe escasa información acerca de la biología de esta especie, especialmente en lo referente a las primeras etapas de su ciclo de vida. El presente trabajo aportará información acerca de los requerimientos germinativos de *T. candicans* y del desarrollo temprano de las plántulas mediante la observación de caracteres anatómicos y morfométricos. Este conocimiento sería de relevancia para implementar futuras estrategias de manejo y conservación de poblaciones silvestres, como así también para promover la propagación artificial de la especie con fines de restauración o comerciales.

El presente estudio se basa en la suposición que *T. candicans* tiene requerimientos germinativos similares a otras especies de la misma familia. En general, los estímulos para la germinación de las cactáceas son la temperatura, la luz y la humedad. Si bien la importancia relativa de cada factor depende de la especie, se ha observado que, en general, las semillas de la mayoría de las cactáceas germinan cuando existe alta disponibilidad de agua en el suelo y las temperaturas son de aproximadamente 25°C (Nobel, 1988; Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes, 2000). Mientras que el requerimiento de la luz para la germinación estaría asociado al tamaño de las semillas; observándose que las especies con semillas pequeñas, similares a las de *T. candicans*, tendrían mayores requerimientos de luz (Gibson & Nobel, 1986; Milberg *et al.*, 2000; Flores *et al.* 2011). Teniendo en cuenta lo observado para otras especies de cactus, se evaluarán, bajo condiciones controladas, las hipótesis que se mencionan a continuación.

HIPOTESIS

1. La germinación de las semillas de *T. candidans* es óptima cuando las semillas son expuestas a temperaturas constantes de aproximadamente 25°C.
2. Las semillas de *T. candidans* poseen fotoblastismo positivo.
3. La germinación de semillas de *T. candidans* es óptima cuando la disponibilidad de agua es alta.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Examinar, bajo condiciones controladas, el efecto de diferentes niveles de temperatura, luz y disponibilidad de agua sobre la germinación de *T. candidans*, y describir el desarrollo temprano de las plántulas.

Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de diferentes temperaturas constantes y alternas sobre la germinación de *T. candidans*.
- Determinar si las semillas de *T. candidans* requieren luz para germinar.
- Determinar el efecto de diferentes niveles de disponibilidad de agua sobre la germinación de *T. candidans*.
- Describir el desarrollo temprano de plántulas de *T. candidans* mediante la observación de caracteres anatómicos y morfométricos.

CAPITULO I

Evaluación de los factores que afectan la germinación de *Trichocereus candicans* (Gillies) Britton et Rose

INTRODUCCIÓN

En Argentina, son escasos los estudios relacionados con la ecofisiología de la germinación de las cactáceas nativas. Algunas especies de las que se conocen estudios respecto de esta temática incluyen a *Denmoza rodacantha* (Méndez, 2007), *Gymnocalycium bruchii*, *G. monvillei*, *G. capillaense*, *G. quehlianum* (Gurvich *et al.*, 2008), *Echinopsis leucantha* (Méndez, 2010), *Trichocereus terscheckii* (Ortega-Baes & Rojas-Aréchiga, 2007) y *Trichocereus candicans* (Ortega-Baes, 2010; Méndez, 2011).

Diversos investigadores mencionan que la temperatura, luz y humedad, son los factores que determinan, en mayor medida, la germinación de las semillas de cactus (Dubrovsky, 1998; Rojas-Aréchiga *et al.*, 1998; Ortega-Baes & Rojas-Aréchiga, 2007; Méndez, 2011). En general, la temperatura tiene la capacidad de promover la germinación, como así también regular el tiempo y la velocidad de la misma (Probert, 1992). Dependiendo de la especie, los requerimientos de temperatura pueden incluir la exposición de las semillas a temperaturas alternas o constantes (Rojas-Aréchiga *et al.*, 1998; Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes, 2000; De la Barrera & Nobel, 2003). Por ejemplo, *Trichocereus terscheckii* exhibe un mayor porcentaje de germinación a 25°C constante que a temperaturas alternas de 35/25°C (Ortega-Baes, & Rojas-Aréchiga, 2007). Por otra parte, gran cantidad de cactáceas poseen fotoblastismo positivo, por lo que la luz es un estímulo importante para controlar el momento de la germinación en su hábitat natural (Ortega-Baes & Rojas-Aréchiga, 2007; Flores *et al.*, 2011). El otro factor limitante para la germinación, y que interactúa con los dos anteriores, es la disponibilidad de humedad edáfica. Dado que en ambientes áridos y semiáridos las precipitaciones son muy variables, tanto espacial como temporalmente, algunas especies están adaptadas para germinar bajo condiciones de estrés hídrico mientras que otras son capaces de aprovechar las condiciones de alta humedad que se producen inmediatamente después de las precipitaciones (Dubrovsky 1998; Flores & Briones, 2001).

Una de las cactáceas columnares más representativas de la Provincia de La Pampa es *Trichocereus candicans*. El presente trabajo analiza los efectos de la temperatura, luz y humedad sobre la germinación de esta especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción de la especie

Trichocereus candicans es una especie de amplia distribución desde el sur de La Rioja, San Juan, San Luis, Córdoba, Mendoza, algunas sierras bajas de La Pampa, sur de Buenos Aires y norte de Río Negro. Las plantas poseen uno a varios tallos columnares, de color verde pálido de unos 60 cm de altura y de 13 a 16 cm de diámetro con areolas grandes, lanosas (Fig. 1). Presenta 9 (hasta 11) costillas anchas con espinas subuladas, generalmente rectas, a veces algo arqueadas amarillas o castaño claro, algunas con bandas más oscuras. Las espinas radiales, presentes en número de 9 a 12, son de 2 a 6 cm de longitud y 1 mm de diámetro en la base. Mientras tanto, las centrales, generalmente 4, son más gruesas y de 3 a 11 cm de longitud. Las flores son blancas, actinomorfas, de 18 a 23 cm de longitud y de 11 a 19 cm de diámetro, con aroma a jazmín, con tépalos rojizos por fuera. Los frutos son globosos, algo alargados, de aproximadamente 5 cm de diámetro, dehiscentes, amarillo dorado o rosado, con el perianto seco persistente y pulpa dulce (Fig. 2). Las semillas son negras de 1,5 mm de largo, verrugosas, en forma de coma (Kiesling, 1978).



Fig. 1. Planta de *T. candicans* con numerosos tallos cortos.



Fig. 2. *T. candicans*, **A:** fruto, **B:** Corte longitudinal del fruto.

Descripción del área de estudio

El área de estudio se encuentra ubicada en el Parque Nacional Lihue Calel, Departamento Lihue Calel, Provincia de La Pampa, Argentina (65° 35' W, 38° 01' S) (Fig. 3). La vegetación dominante corresponde a la Provincia fitogeográfica del Monte (INTA *et al.*, 1980). El clima es templado y semiárido, con una temperatura media anual de 15° C (temperatura máxima media anual: 40 °C, temperatura mínima media anual: -10 °C). La precipitación anual es de 365 mm, concentradas entre los meses de octubre a marzo. El periodo libre de heladas es de aproximadamente 150-160 días y se extiende entre el 18 de octubre y el 10 de abril, con una variabilidad de ± 20 días. Los vientos son predominantemente del sector sudoeste. El relieve del área se caracteriza por presentar afloramientos rocosos, sierras y depresiones rodeadas por extensas planicies. Los suelos son poco desarrollados, por lo que generalmente son clasificados como Entisoles y con presencia de carbonatos de calcio. El material original es de origen eólico (INTA *et al.*, 1980).



Fig. 3. Área de estudio Parque Nacional Lihue Calel (La Pampa), Argentina.

Recolección de semillas

Se recolectaron 1-2 frutos maduros de 30 plantas adultas seleccionadas al azar. Los frutos fueron secados al aire, y posteriormente se realizó la extracción manual de las semillas. Antes de la realización de los ensayos se realizó una selección manual-visual de las semillas, descartándose aquellas de coloración clara y/o tamaño muy reducido. Las semillas fueron colocadas en bolsas de papel y almacenadas en un lugar seco a temperatura ambiente hasta la realización de los ensayos de germinación.

Se determinó el peso promedio de 5 repeticiones de 25 semillas cada una, obteniéndose un valor de 0.4128 ± 0.0058 mg/semilla.

Ensayos de germinación

Se llevaron a cabo diferentes tratamientos para examinar el efecto de distintos factores sobre la germinación de las semillas. Por cada tratamiento se utilizaron 5 repeticiones de 25 semillas cada una. Cada repetición consta de una caja de Petri

previamente esterilizada en la que se colocaron una capa fina de algodón y dos papeles de filtro esterilizados y embebidos con agua destilada o con la solución correspondiente según el caso. Posteriormente se colocaron las semillas sobre el papel humedecido las cuales previamente habían sido desinfectadas superficialmente en una solución de hipoclorito de sodio al 10% (1:5 v/v) por 2 min y luego enjuagadas con agua destilada. A menos que se especifique de otra manera, la germinación se llevó a cabo en cámara de germinación (Fig.4) con un fotoperíodo de 12 hs de luz y 12 hs de oscuridad y a temperatura constante de 25°C, la cual es considerada óptima para la mayoría de las especies de cactáceas (Rojas-Aréchiga & Vazquez-Yanes, 2000). El número de semillas germinadas se registró cada 2-3 días por un período de 30 días. La semilla se consideró germinada cuando se observó la aparición de la radícula.

Inmediatamente después de la recolección de los frutos y antes de la realización de los tratamientos propuestos se verificó la capacidad de germinación de las semillas. Para ello se colocaron semillas a germinar en las mismas condiciones que el control (25°C, 12 hs de luz/12 hs de oscuridad). Los valores de germinación obtenidos fueron similares a los del tratamiento control.

Los tratamientos realizados fueron:

- *Temperaturas constantes*. Se evaluó la germinación a 15°C, 20°C, 25°C (control), 30°C y 35°C.
- *Temperaturas alternas*. Se evaluó germinación a 20/10°C, 25/15°C y 30/20°C para comparar con el control a temperatura constante (25°C).
- *Oscuridad*. Para determinar si las semillas tenían fotoblastismo positivo se comparó un tratamiento control con cajas expuestas a la luz con un tratamiento de ausencia de luz, donde la manipulación de las cajas y la siembra se realizó en forma similar al control pero en oscuridad, y luego fueron forradas en papel aluminio para evitar la exposición a la luz. En este tratamiento se evaluó el número de semillas germinadas al final del experimento (30 días).
- *Potenciales agua*. Se evaluó el efecto de los distintos niveles de disponibilidad de agua sobre la germinación a través de la modificación del potencial agua utilizando diferentes soluciones de Polietilenglicol 6000 (Michel & Kaufmann, 1973). Se simularon potenciales agua de -0.1, -0.4, -0.7 y -1.0 MPa. Los tratamientos se compararon con un control preparado con agua destilada (0 MPa).

Para el presente estudio no se investigaron los efectos interactivos entre la temperatura y el potencial agua debido a la dificultad de manejar un gran número de réplicas en la cámara de germinación.

Para todos los tratamientos se registró (1) el porcentaje total de germinación, (2) la tasa de germinación estimada como el porcentaje de germinación ponderado (Reddy *et al.*, 1985) y (3) el tiempo medio de germinación (TMG), utilizándose estas dos últimas variables como estimadores de la velocidad de germinación.

Tasa de germinación: se calculó como el porcentaje de germinación ponderado por el momento de la misma, dando el máximo peso a las semillas que germinan primero y progresivamente menor a aquellas que germinan subsecuentemente.

$$\text{Tasa de germinación} = \frac{(n_1 * t_{final} + n_2 * t_{final-1} + n_3 * t_{final-2} + \dots + n_{final} * 1) * 100}{N * t_{final}}$$

Donde: $n_1, n_2, n_3, \dots, n_{final}$ es el número de semillas que germinan en el día 1, 2, 3 y sucesivamente hasta el día final del tratamiento; t_{final} es el tiempo transcurrido (expresado como números de días) desde la siembra (día 1) hasta el fin del experimento; $t_{final-1}, t_{final-2}, \dots, 1$ corresponden al día de la observación de la germinación (expresado en función del t_{final}); y N es el número total de semillas puestas a germinar en cada caja de Petri.

El tiempo medio de germinación (TMG) fue calculado como:

$$\text{TMG} = \frac{\sum n_i * t_i}{\sum n_i}$$

Donde: n_i es el número de semillas germinadas en el tiempo i (no el número acumulado, sino la cantidad desde la observación anterior); t_i es el período comprendido entre el inicio del experimento y la i -ésima observación (expresado como número de días).

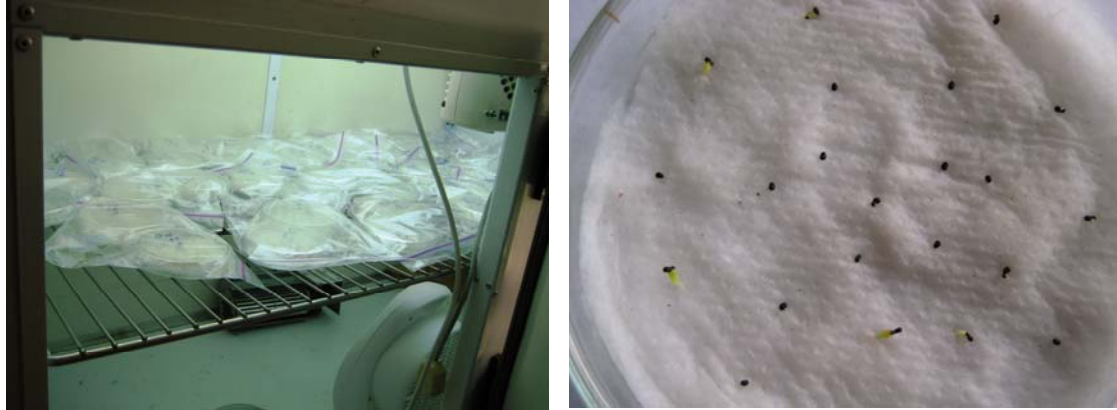


Fig. 4. Ensayos de germinación, **A:** Cámara de germinación, **B:** Caja de Petri con semillas de *T. candidans* germinadas.

Análisis estadístico

Los datos de germinación fueron analizados mediante ANOVA. Las medias se compararon mediante el test de Tukey HSD ($p < 0.05$). Los valores se indican como media \pm error estándar.

RESULTADOS

Efectos de la temperatura

La temperatura afectó significativamente el porcentaje ($F_{7,39} = 18.45$; $P < 0.0001$), la tasa ($F_{7,39} = 29.81$; $P < 0.0001$) y el tiempo medio de germinación ($F_{7,39} = 20.54$; $P < 0.0001$) de las semillas de *T. candidans*. El porcentaje máximo de germinación se registró cuando las semillas fueron expuestas a 25°C (control) y el mínimo se observó a 15°C; mientras que los demás tratamientos presentaron valores intermedios (Fig. 5A). La mayor velocidad de germinación se registró a 25°C, coincidiendo con el máximo porcentaje de semillas germinadas (Figs. 5A y B). El TMG del control fue de 10.5 (± 0.7) días (Fig. 5C).

La germinación no difirió significativamente entre los tratamientos de 25, 30, 30/20 y 20°C (Fig. 5A). Sin embargo, se observaron diferencias significativas con respecto a la velocidad de germinación, siendo la tasa a 25°C mayor a las observadas a 30, 30/20 y 20°C ($P < 0.05$, Fig. 5B). El TMG no difirió significativamente con respecto al control cuando las semillas fueron expuestas a 30 y 30/20°C; mientras que la exposición a 20°C retrasó significativamente el TMG en aproximadamente 5 días con respecto al control ($P < 0.05$, Fig. 5C). Asimismo, no se observaron variaciones significativas en el porcentaje, la tasa de germinación y el TMG cuando se compararon los tratamientos de 20 y 30°C con el correspondiente tratamiento de alternancia de temperatura 30/20°C (Fig. 5A-C).

Los porcentajes y tasas de germinación a 15 y 35°C fueron significativamente menores a los observados en el tratamiento control a 25°C (Fig. 5A y B). La reducción de 10°C de temperatura a partir del control disminuyó considerablemente la germinación en un 60%. La germinación también disminuyó un 50% al comparar el control con el tratamiento de 20/10°C, cuyo promedio es 15°C ($P < 0.05$, Fig. 5A). En forma similar, un aumento de 10°C con respecto al control provocó una reducción significativa del 41% en el total de semillas germinadas (Fig. 5A). Si bien no se detectaron diferencias significativas en el porcentaje de germinación entre 15 y 35°C, la tasa de germinación fue considerablemente menor a 15°C ($P < 0.05$; Fig. 5B). El TMG fue significativamente menor a 25 y 35°C con respecto al tratamiento de 15°C ($P < 0.05$, Fig. 5C).

Al comparar los tratamientos de 20°C y 20/10°C se detectó que la alternancia de 20°C con 10°C redujo significativamente el porcentaje de germinación en un 42% con respecto a 20°C (Fig. 5A). Los valores de la tasa y el TMG indicaron que la velocidad de germinación también fue menor cuando las semillas fueron expuestas a 20/10°C ($P < 0.05$),

observándose un retraso en la germinación de aproximadamente cinco días en este tratamiento con respecto a 20°C (Fig. 5B y C).

Se detectaron diferencias significativas entre los porcentajes y las tasas de germinación observadas a 25/15°C con las respectivas temperaturas constantes de 25°C y 15°C ($P < 0.05$, Fig. 5A y B). La alternancia de 25/15°C redujo la germinación en un 28% con respecto al control y duplicó el valor observado a 15°C. Las tasas de germinación y el TMG siguieron un patrón similar dando como resultado una mayor velocidad de germinación a 25°C; seguida en orden decreciente por 25/15°C y luego 15°C (Fig. 5B y C). A 25/15°C, el TMG se incrementó en aproximadamente 6 días respecto del control.

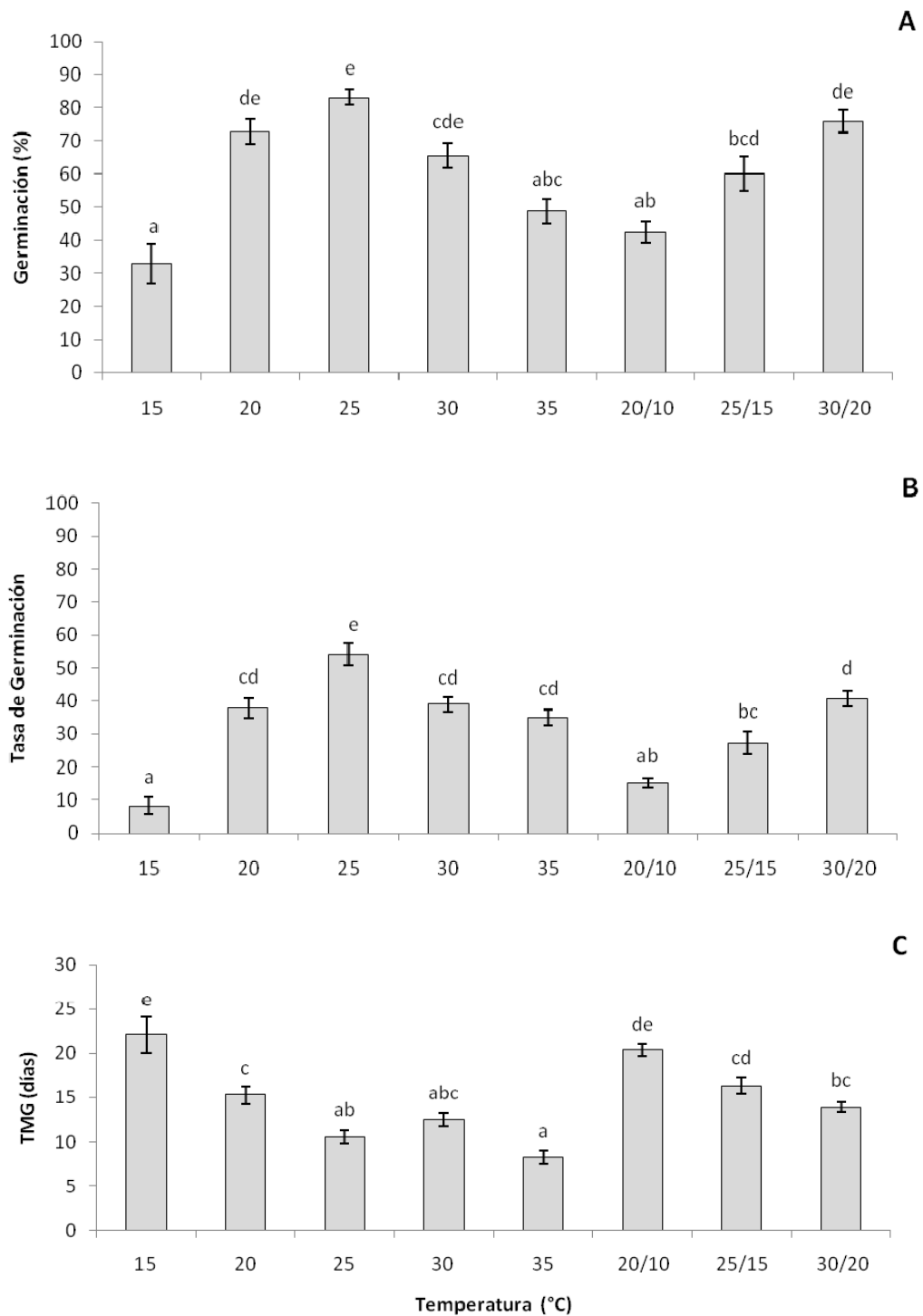


Fig. 5. A: Porcentaje de germinación, **B:** tasa de germinación y **C:** tiempo medio de germinación (TMG) de semillas de *T. candidans* según diferentes temperaturas constantes y alternas. Los valores se expresan como media \pm error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Efecto de la luz

Las semillas germinaron cuando fueron expuestas a la luz (control), mientras que la oscuridad inhibió completamente la germinación de las mismas.

Efecto del potencial agua

Las variaciones en el potencial agua tuvieron un efecto significativo sobre los porcentajes finales ($F_{4,24} = 94.48$; $P < 0.0001$), la tasa ($F_{4,24} = 62.56$; $P < 0.0001$) y el tiempo medio de germinación de las semillas ($F_{2,14} = 13.22$; $P = 0.0009$). Si bien los mayores valores en estos parámetros se registraron en el tratamiento control (0 MPa), no se observaron diferencias significativas entre este último y el tratamiento de -0.1 MPa (Figs. 6A-C). El porcentaje y la tasa de germinación de las semillas expuestas a -0.4 MPa fue significativamente menor que los observados en 0 y -0.1 MPa ($P < 0.05$; Figs. 6A y B). Esta reducción del potencial agua disminuyó la germinación en aproximadamente un 40% y retrasó la misma en 6-7 días con respecto a 0 y -0.1 MPa (Fig. 6C). Los menores porcentajes y tasa de germinación se registraron bajo condiciones de -0.7 y -1.0 MPa (Fig. 6A y B). El porcentaje de germinación a -0.7 MPa fue un 85% menor que en el control, mientras que a -1.0 MPa, la germinación fue casi nula. El TMG para -0.7 MPa y -1.0 MPa no pudo ser calculado dado que la cantidad de ceros influía el análisis.

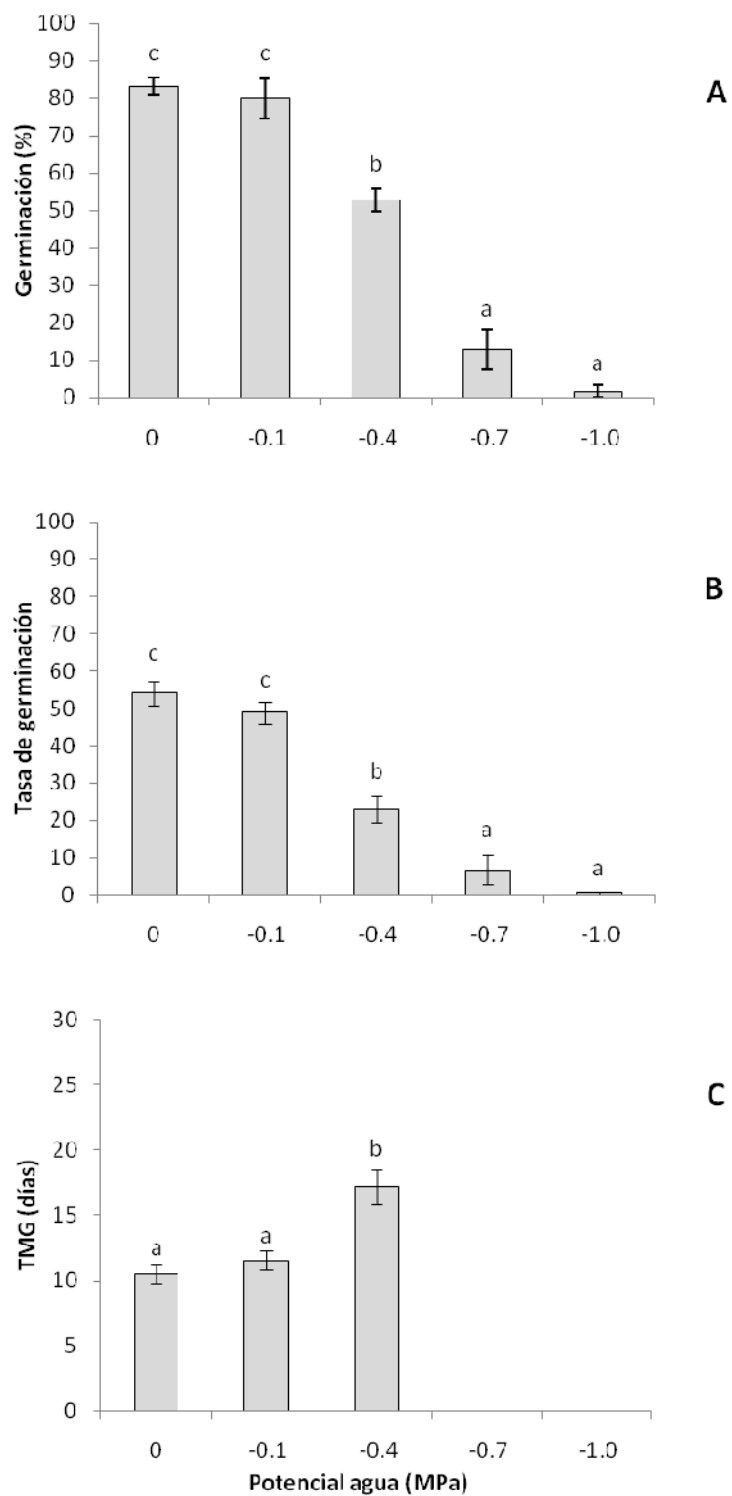


Fig. 6. A: Porcentaje de germinación, **B:** tasa de germinación y **C:** tiempo medio de germinación (TMG) de semillas de *T. candidans* según diferentes tratamientos de potencial agua (soluciones de PEG 6000). Los valores se expresan como media \pm error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$). El TMG no pudo ser calculado para -0.7 MPa y -1.0 MPa.

DISCUSIÓN

Los resultados mostraron que la germinación de las semillas de *T. candicans* está influenciada por la temperatura, la luz y la disponibilidad de agua.

Las semillas de *T. candicans* germinaron en todo el rango de temperaturas analizado (15-35°C). El porcentaje de germinación fue máximo cuando las semillas fueron expuestas a temperaturas constantes de 25°C. También se obtuvieron valores altos a 20°C, 30°C y 30/20°C; sin embargo, en estos tratamientos, la velocidad de germinación, fue menor que a 25°C lo que sugeriría que ésta es la temperatura óptima para *T. candicans*. Este resultado coincide con lo observado para gran cantidad de especies de cactáceas, las cuales en general germinan entre 17°C y 34°C, con valores óptimos alrededor de 25°C (Nobel, 1988; Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes, 2000). Los porcentajes obtenidos entre 20°C y 30°C fueron similares a los mencionados para la especie por Ortega-Baes *et al.*, (2010) y Méndez (2011). Otras comparaciones con dichos autores no fueron posibles, dado que cada uno de estos trabajos sólo utilizó dos de los tratamientos incluidos en el presente estudio (25°C vs. 30/20°C en Ortega-Baes *et al.*, 2010 y 20°C vs. 30°C en Méndez, 2011).

Según lo propuesto por Nobel (1988) la germinación de las cactáceas se reduce en aproximadamente un 50%, 9°C por debajo y por encima del valor óptimo de temperatura. Los resultados del presente estudio se ajustarían a este criterio, ya que a 15°C y 35°C la germinación de *T. candicans* se redujo en un porcentaje igual o mayor al 50% en comparación con la temperatura óptima (25°C). El rango de temperatura en el cual más del 50% de las semillas de *T. candicans* germinaron (20-30°C), es menor al observado para otras especies del mismo género como *T. schickendantzii* (Ortega-Baes *et al.*, 2011) y *T. terscheckii* (Ortega-Baes & Rojas-Aréchiga, 2007) y para otras cactáceas columnares entre las que se incluyen *Stenocereus queretaroensis* (De la Barrera & Nobel, 2003), *Pachycereus hollianus*, *Cephalocereus chrysacanthus* y *Neobuxbaumia tetetzo* var. *tetetzo* (Rojas-Aréchiga, *et al.*, 1998). Estos resultados sugieren que *T. candicans* posee una menor tolerancia a temperaturas extremas que las especies mencionadas.

Con respecto al efecto de la luz sobre la germinación, el presente estudio muestra que las semillas de *T. candicans* poseen fotoblastismo positivo y que la oscuridad inhibe completamente la germinación. Estas observaciones con respecto a la necesidad de luz para la germinación están en concordancia con lo reportado por Ortega-Baes *et al.* (2010) pero difieren con lo registrado por Méndez (2011) para la especie. Sin embargo cabe señalar que la germinación de *T. candicans* en oscuridad observada por Méndez (2011)

podría ser producto de la forma en que se manipularon las semillas durante los tratamientos como fuera mencionado por el propio autor. El tamaño pequeño de las semillas de *T. candicans* y su comportamiento con respecto a la luz sería consistente con lo observado para un gran número de cactáceas y otras especies de plantas vasculares, en las que el requerimiento de luz para germinar disminuye a medida que aumenta el tamaño de la semilla (Gibson & Nobel, 1986; Milberg *et al.*, 2000; Flores *et al.* 2011). En un estudio que incluyó 136 taxones de cactus, Flores *et al.* (2011) observaron que las especies con semillas pequeñas tienden a poseer un requisito mayor de luz para la germinación que aquellas especies con semillas de mayor tamaño. En general, a medida que la masa de la semilla disminuye, también disminuyen las reservas por lo que la supervivencia de las plántulas depende de su capacidad para comenzar a fotosintetizar rápidamente después de la emergencia de los cotiledones (Moles & Westoby, 2004; Kigel, 2001). Si las semillas pequeñas quedan enterradas a mucha profundidad y posteriormente germinan, la probabilidad de supervivencia de las plántulas disminuye como resultado del agotamiento de las reservas antes de que la plántula alcance la superficie del suelo (Lambers *et al.*, 1998). En consecuencia, el estímulo de luz para la germinación (fotoblastismo positivo) evita que las semillas germinen en condiciones que no son favorables para el establecimiento de la plántula.

El efecto del potencial agua sobre la germinación de los cactus no ha sido tan extensamente estudiado como el de la temperatura y la luz; sin embargo, los escasos estudios disponibles muestran que no existe un patrón único con respecto a este factor. En este trabajo, la germinación de *T. candicans* fue óptima cuando la disponibilidad de agua fue alta (0 MPa). Si bien las semillas toleran un estrés hídrico leve (-0.1 MPa) sin modificar los porcentajes máximos de germinación, a menores potenciales estos valores se ven reducidos. Una relación similar entre germinación y potencial agua ha sido observada en *Mammillaria gaumeri*, un cactus globoso y de tamaño pequeño, que presenta un óptimo de germinación entre 0 y -0.2 MPa (Cervera *et al.*, 2006). De igual manera, en la cactácea columnar *Stenocereus queretaroensis*, el máximo de germinación también se produce cuando el potencial agua es de 0 MPa (De la Barrera & Nobel, 2003). No obstante, en comparación con estas dos especies, la respuesta de *T. candicans* a la reducción del potencial agua es más severa, dado que a -1.0 MPa la germinación final es prácticamente nula (< 2%); mientras que en *M. gaumeri* y *S. queretaroensis* sólo se reduce un 34 y 23% respectivamente (De la Barrera & Nobel, 2003; Cervera *et al.*, 2006). En contraste, en las cactáceas columnares arborescentes *Neobuxbaumia tetetzo* y *Pachycereus hollianus* se ha

observado que a medida que el potencial agua disminuye, se incrementa el porcentaje de germinación (Flores & Briones, 2001).

El área de distribución de *T. candidans* es amplia, abarca varias provincias fitogeográficas, pero adquiere mayor importancia por abundancia y amplitud de distribución en la Provincia del Monte (Kiesling, 1978). En esta región predomina el clima templado a templado-cálido, con precipitaciones concentradas principalmente en los meses de septiembre-abril (Servicio Meteorológico Nacional, 2012). Estas observaciones sugerirían que, bajo condiciones naturales, la germinación de *T. candidans* se produciría en primavera y verano cuando las temperaturas diarias promedio superan los 15°C y hay mayor disponibilidad de agua, como resultado de las precipitaciones. Dado que la especie crece en ambientes en donde las temperaturas extremas frecuentemente se encuentran por debajo y por encima del rango de 20-30°C (Cabrera, 1976; Kiesling, 1978; INTA *et al.*, 1980; Mazzola *et al.*, 2008) y donde las temperaturas promedio a nivel del suelo pueden superar los 30°C durante los meses más cálidos (Mazzola *et al.*, 2008), *T. candidans* tendría mayores probabilidades de germinar en micrositos donde las temperaturas extremas son atenuadas y se pueda mantener por más tiempo la humedad, posiblemente por el efecto de la vegetación o rocas circundantes.

La reducción de la germinación a temperaturas mayores de 30°C, podría deberse a que en condiciones naturales, estas temperaturas generan condiciones de alta evaporación que podrían disminuir las probabilidades de supervivencia para las plántulas (Gibson & Nobel, 1986). En forma similar, la restricción de la germinación a bajas temperaturas impediría que las semillas germinen en inviernos atípicos, más cálidos y húmedos que lo normal y que, *a posteriori*, se vea restringida la supervivencia de las plántulas como consecuencia de la exposición a temperaturas extremadamente bajas y heladas frecuentes. Esto permitiría a *T. candidans* afrontar la variabilidad interanual de temperaturas y precipitaciones características de las regiones áridas y semiáridas donde habita.

Por otra parte, el hecho de que las semillas estarían en condiciones de germinar desde el momento de su dispersión, podría resultar ventajoso para aprovechar en forma eficiente las lluvias de primavera y verano.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten concluir que las semillas de *T. candicans* germinan con valores óptimos próximos a 25°C. Las semillas poseen fotoblastismo positivo y germinan cuando la disponibilidad de agua es alta (0 a -0.1 MPa). Estos resultados aportan al conocimiento de la ecofisiología de *T. candicans* y además, pueden ser utilizados con fines conservacionistas para obtener plántulas de la especie que puedan ser reintroducidas en su hábitat natural. Por otra parte, esta información permite satisfacer las necesidades de los cultivadores para lograr la propagación *ex situ* de *T. candicans* y así evitar la presión que ejercen sobre las poblaciones naturales a las que frecuentemente recurren cuando se necesitan ejemplares para comercializar.

CAPITULO II

Características morfológicas y anatómicas de las plántulas de

Trichocereus candicans

INTRODUCCIÓN

Las características anatómicas, morfológicas y fisiológicas presentes en las cactáceas confieren a estas especies la capacidad para sobrevivir en condiciones ambientales extremas típicas de los ambientes áridos y semiáridos donde habitan (Gibson & Nobel, 1986). La mayoría de los caracteres morfológicos son empleados frecuentemente con propósitos sistemáticos, y en forma adicional los anatómicos contribuyen a la solución de problemas taxonómicos (Herrera-Cárdenas *et al.*, 2000). Para la familia Cactaceae se han realizado descripciones morfológicas y anatómicas tanto en plántulas (Mauseth, 1978a, 1979a, 1980; Salles, 1987; Dubrovsky, 1997; Dubrovsky & Gómez-Lomeli, 2003; Loza-Cornejo *et al.*, 2003; Ayala-Cordero *et al.*, 2006; Loza-Cornejo & Terrazas, 2011) como en individuos adultos (Mauseth, 1978b, 1979b, 1981a, b, 1982a, b, c, d, 1984, 2006; Boke, 1980; Eggli, 1984; Gibson y Nobel, 1986; Baker & Johnson, 2000; Herrera-Cárdenas *et al.*, 2000; Loza-Cornejo & Terrazas, 2003; Terrazas *et al.*, 2005; García Aguilar *et al.*, 2009). Sin embargo, ha sido poco estudiado el proceso de diferenciación de las distintas estructuras desde la germinación y durante las primeras semanas de vida de las cactáceas. Por ejemplo, las características del desarrollo temprano del sistema radical de las plántulas estarían directamente relacionadas con el proceso de absorción rápida de agua y nutrientes que favorece la supervivencia de los individuos (Dubrovsky, 1997; Dubrovsky & Gómez-Lomeli, 2003; Loza-Cornejo *et al.*, 2003). Este conocimiento es de importancia para entender el rol ecológico de los diferentes caracteres durante el establecimiento de la plántula.

El presente trabajo plantea como objetivo la descripción del proceso de germinación de la semilla y la caracterización morfológica y anatómica de la plántula de *Trichocereus candicans* en las primeras etapas de su crecimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la descripción de las características morfológicas y anatómicas se obtuvieron plántulas de *T. candicans* por germinación bajo condiciones de laboratorio. Para ello, se prepararon cajas de Petri previamente esterilizadas, con una fina capa de algodón y papel de filtro esterilizados embebidos con agua destilada. Sobre el papel humedecido se colocaron las semillas previamente desinfectadas superficialmente por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 10% (1:5 v/v) durante 2 minutos y luego enjuagadas con agua destilada. La germinación se llevó a cabo en cámara de germinación a 25°C con fotoperíodo de 12 hs luz y 12 hs oscuridad. En un estudio previo, esta temperatura fue determinada como óptima para *T. candicans* (ver Capítulo I). Se consideró germinada a la semilla cuando se observó la aparición de la radícula. Se obtuvieron aproximadamente 300 plántulas que fueron mantenidas en cajas de Petri bajo las mismas condiciones de laboratorio hasta la finalización del experimento.

La descripción de las variaciones morfológicas y las ilustraciones se realizaron mediante la observación diaria de un total de 35 plántulas bajo microscopio estereoscópico (LabKlass modelo XTD 217T) durante un periodo de 30 días desde la germinación.

La caracterización morfométrica se realizó en plántulas, seleccionadas al azar, de diferentes edades: una (5 - 7 días), cuatro y seis semanas de vida ($n = 45$, $n = 32$, $n = 35$, respectivamente). Las mismas se colocaron bajo el microscopio estereoscópico y se realizaron mediciones de los caracteres morfológicos, utilizando un calibre digital, según se muestra en la Fig. 1.

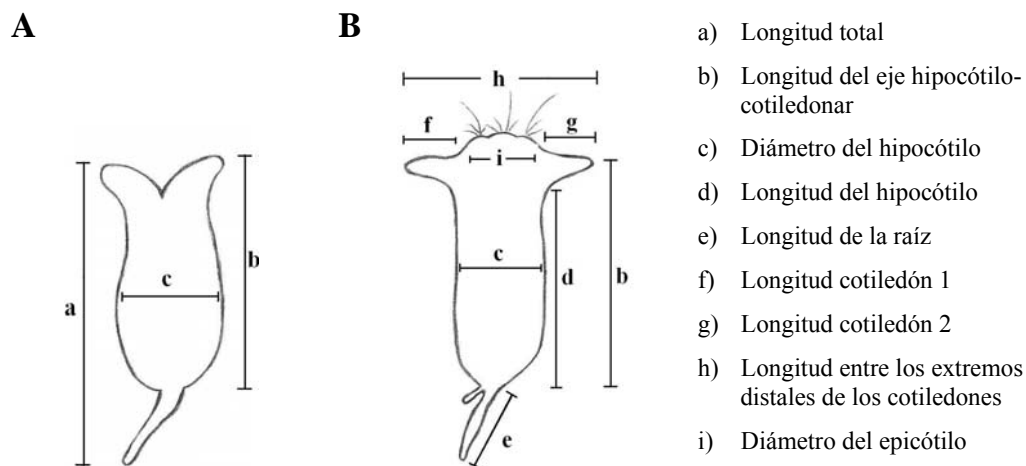


Fig. 1. Diagrama de las mediciones realizadas en plántulas de **A:** una semana, **B:** cuatro y seis semanas de vida.

El estudio anatómico y la descripción de los tejidos se realizaron en plántulas seleccionadas al azar, de una, cuatro y doce semanas de vida. Para la descripción de la anatomía se hicieron cortes transversales y longitudinales a mano alzada. Para la observación de la epidermis se utilizó la técnica de raspado. En todos los casos se realizaron preparados temporarios de material fijado en FAA (alcohol 96° - agua destilada -formol - ácido acético glacial en proporción 10:7:2:1) los cuales se tiñeron con safranina y con Sudan IV para observar la cutícula. Las fotografías se obtuvieron con una cámara digital sin zoom (Sony, 3,2 megapíxeles) adaptada al ocular (10 X) del microscopio óptico LabKlass (objetivos 4X, 10X y 40X) y del microscopio estereoscópico con zoom LabKlass. Cuando fue necesario se complementaron las observaciones con cortes a mano alzada de material fresco.

Una vez finalizado el experimento, las plántulas que se obtuvieron por germinación fueron trasplantadas a macetas y continuaron su crecimiento bajo condiciones semicontroladas en el invernáculo de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de La Pampa (Santa Rosa, La Pampa, Argentina). Todos los valores se expresan como la media \pm error estándar.

RESULTADOS

Morfología y anatomía de las plántulas

La semilla es pequeña (0.4128 ± 0.0058 mg) y el tegumento es de color negro brillante con puntuaciones. Presenta la escama hilar u opérculo bien definida donde se encuentra el hilo y el orificio micropilar. La germinación de las semillas es epigea y se inicia, en promedio, a los 10.5 (± 0.7) días (Capítulo I) con el rompimiento de la testa en línea oblicua por debajo del opérculo y la aparición de la radícula blanca, curva y corta (Fig. 2A). En este momento son claramente visibles los pelos radicales unicelulares, transparentes, abundantes y que superan en longitud a la radícula. Los mismos se observan en toda la superficie de la radícula incluso también en el extremo distal o apical (Figs. 3A, 4A). Posteriormente, emerge el hipocótilo succulento, de coloración verde clara, visiblemente diferenciado de la raíz por el color y por el cuello de la misma (Fig. 3A).

Durante la primera semana de vida de las plántulas se produce el alargamiento de la raíz primaria. Cabe destacar que en el extremo apical de la raíz no se observa cofia sino pelos radicales (Fig. 4B). El hipocótilo y los cotiledones forman un eje hipocótilo-

cotiledonar succulento de forma globosa a elongada, de 0.85 - 1.74 mm de diámetro y 2.49 - 5.73 mm de longitud total (Tabla 1). Los cotiledones, en número de dos, son opuestos y ligeramente separados entre sí, de modo que el eje longitudinal de los cotiledones permanece aproximadamente paralelo al eje longitudinal del hipocótilo (Fig. 3A). Los mismos son pequeños, turgentes, sésiles, glabros, cónicos a subcónicos, iguales a subiguales, con la base amplia y los ápices agudos. Internamente se observa un parénquima clorofiliano uniforme y un haz vascular colateral (Fig. 3A). La epidermis que recubre el eje hipocótilo-cotiledonar, vista en superficie, consta de células con contorno ondulado o lobulado (paredes celulares anticlinales) y núcleos claramente visibles (Fig. 5A). Los estomas presentes en los cotiledones y el hipocótilo, son superficiales y paralelocíticos, con tres células anexas (Fig. 5B). En este momento, el epicótilo es visible sólo microscópicamente y presenta tricomas simples, pluricelulares (3 - 5 células), translúcidos y moniliformes. La testa de la semilla puede permanecer adherida a uno de los cotiledones por períodos prolongados de tiempo 5 - 7 meses (observación personal en condiciones de invernáculo).

A partir de la segunda semana de vida, la raíz principal se torna de color pardo claro y comienzan a desarrollarse pequeñas ramificaciones laterales. Al mismo tiempo, en la región apical caulinar se hace visible macroscópicamente el epicótilo, con la aparición de los primordios de las areolas en la base de cada cotiledón, los cuales comienzan a tomar una posición perpendicular al hipocótilo (Figs. 2E, F). En cada primordio de la areola se observan 1 - 2 espinas hialinas, pluricelulares, largas, rectas, flexibles, puntiagudas y rodeadas de varios tricomas más cortos que las espinas (Fig. 6). En la tercer semana de vida se observan claramente dos nuevos primordios de areolas ubicados en posición alterna con los ya existentes, mientras que las primeras areolas presentan 1 - 4 espinas nuevas (Figs. 2G y H).

A las cuatro semanas de vida, el diámetro mayor del hipocótilo y la longitud desde la base del mismo hasta el extremo de los cotiledones varía entre 1.63 - 2.88 mm y 4.32 - 5.85 mm, respectivamente, incrementándose ambos en aproximadamente un 60% con respecto a la primera semana de vida (Tabla 1, Fig. 3B).

Una leve reducción del tamaño de los cotiledones, el hipocótilo y la raíz se evidencia a las seis semanas (Tabla 1). A medida que se desarrolla el epicótilo los cotiledones reducen paulatinamente su tamaño por varios meses (5-7) hasta su reabsorción completa (observación personal).

Tabla 1. Dimensiones de las plántulas de *T. candicans* en las primeras seis semanas de vida. Los valores expresan la media \pm error estándar.

Medida (mm)	Edad de la plántula (semanas)		
	Primera	Cuarta	Sexta
Longitud total	3.94 \pm 0.11	-	-
Longitud eje hipocótilo-cotiledonar	3.22 \pm 0.09	5.16 \pm 0.07	4.72 \pm 0.08
Diámetro del hipocótilo	1.32 \pm 0.03	2.04 \pm 0.05	1.83 \pm 0.03
Longitud del hipocótilo	-	4.33 \pm 0.08	4.04 \pm 0.09
Longitud de la raíz	-	2.02 \pm 0.11	1.63 \pm 0.10
Longitud cotiledón 1	-	0.60 \pm 0.02	0.49 \pm 0.03
Longitud cotiledón 2	-	0.56 \pm 0.02	0.46 \pm 0.03
Longitud entre los extremos distales de los cotiledones	-	2.95 \pm 0.06	2.96 \pm 0.06
Diámetro del epicótilo	-	1.79 \pm 0.06	2.00 \pm 0.09

En plántulas de 12 semanas, el hipocótilo presenta la epidermis uniestrata con cutícula de grosor medio (Fig. 7A) y cristales agregados alrededor de un núcleo central bien visible (drusas) (Fig. 7B). Subyacente a la epidermis está el tejido parenquimático fotosintético constituido por células grandes y poliédricas, de paredes finas y con cloroplastos discoidales. En el centro hay un cordón vascular que se extiende desde el cuello de la raíz hasta aproximadamente un tercio del hipocótilo. En los dos tercios siguientes del hipocótilo, el cordón vascular se separa en dos haces vasculares y se distingue una médula parenquimática central. Los dos haces vasculares recorren el eje hipocotilar hasta ingresar cada uno en un cotiledón (Fig. 3B). Cada haz vascular tiene forma de arco, con el xilema en el centro y en cada extremo del arco, floema (Fig. 8A). El xilema presenta elementos anillados y helicoidales (Figs. 8B y C).

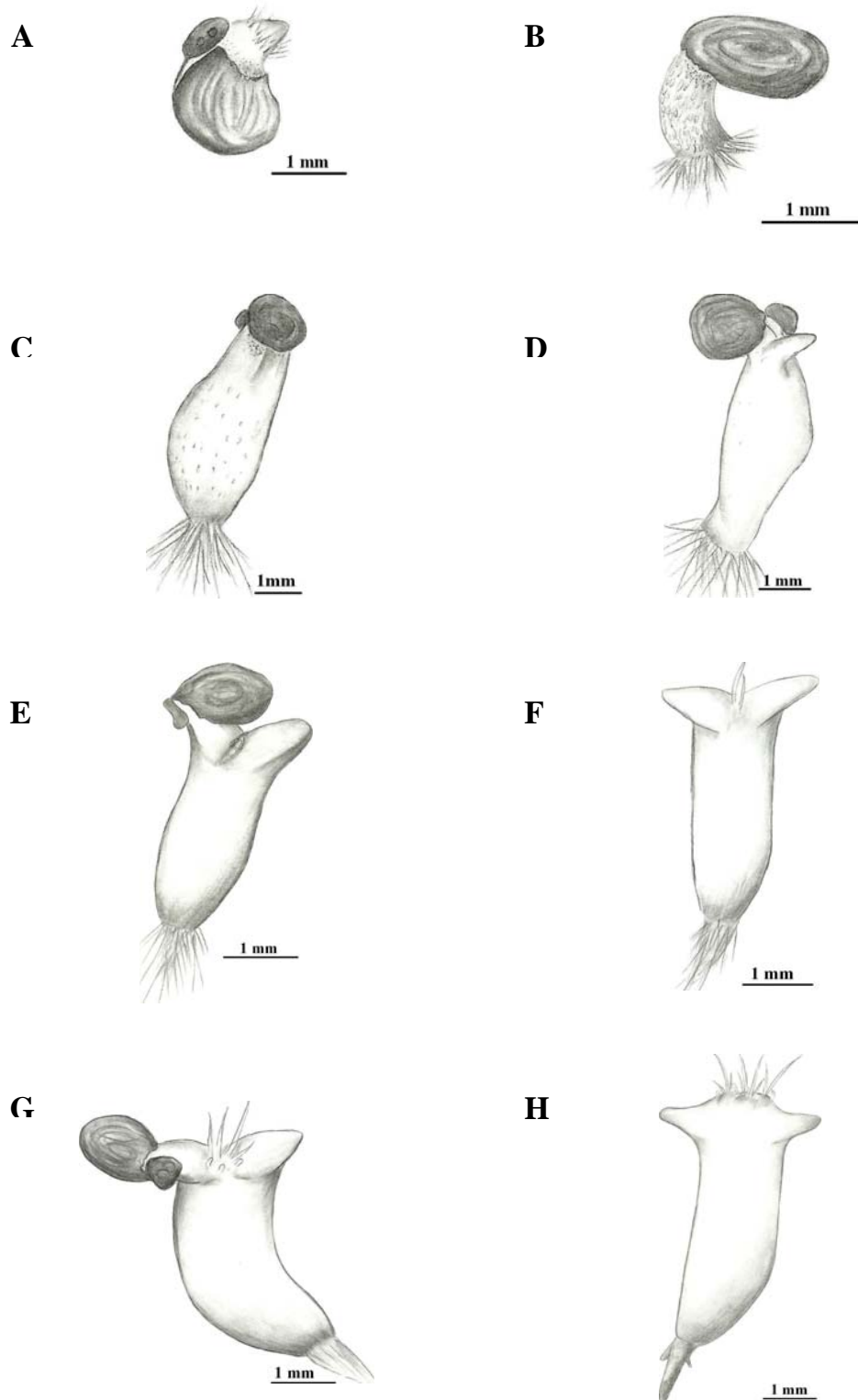


Fig. 2. Desarrollo de plántulas de *T. candicans* durante las primeras cuatro semanas de vida. **A:** Semilla germinada y opérculo, **B:** Emergencia del hipocótilo (tres días), **C:** Elongación del hipocótilo **D:** Cotiledón emergiendo de la testa (seis días), **E:** Primordios de areolas, **F:** Aparición de las primeras espinas (11 días), **G:** Epicótilo con tricomas y espinas, **H:** Epicótilo desarrollado con cuatro areolas, tricomas, espinas y raíz ramificada.

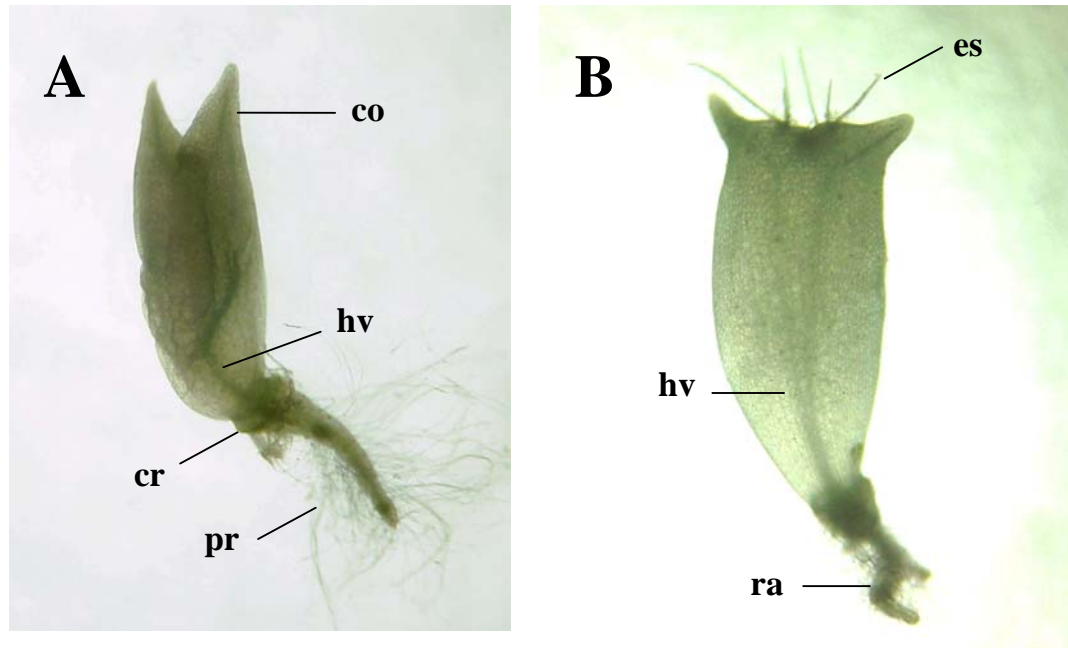


Fig. 3. Vista general de plántulas de *T. candicans* de distintas edades (2X), **A:** una semana desde la germinación, **B:** cuatro semanas desde la germinación. Referencias, **co:** cotiledón, **hv:** haces vasculares, **cr:** cuello de la raíz, **pr:** pelos radicales, **es:** espina, **ra:** raíz con ramificación.

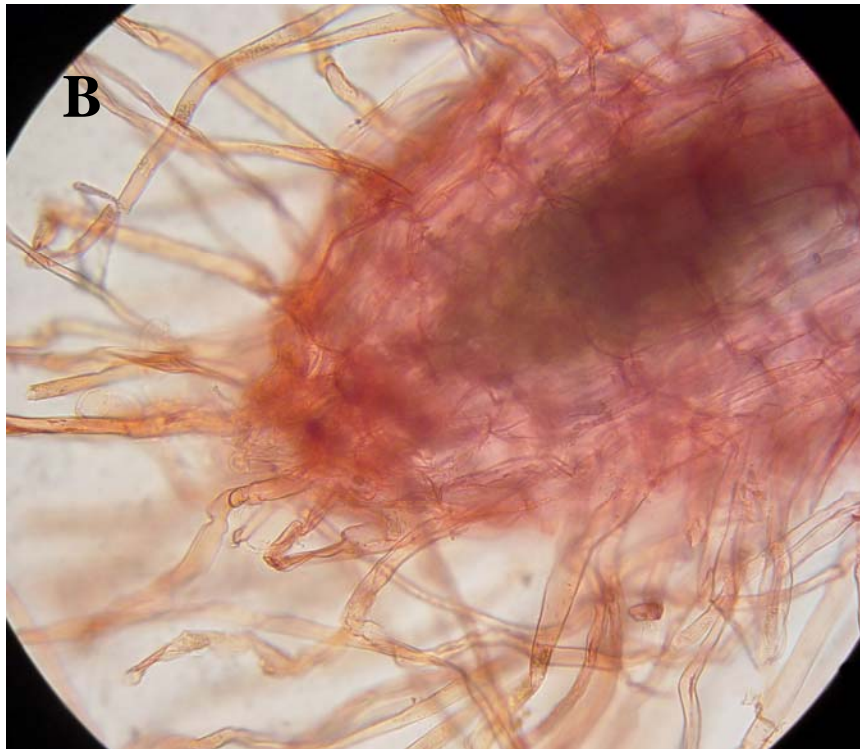


Fig. 4. Raíz de *T. candidans*, **A:** de plántulas de una semana de vida con pelos en toda la superficie (10X), **B:** detalle del ápice radical donde se observa la presencia de pelos radicales en el extremo distal teñido con safranina (40X).

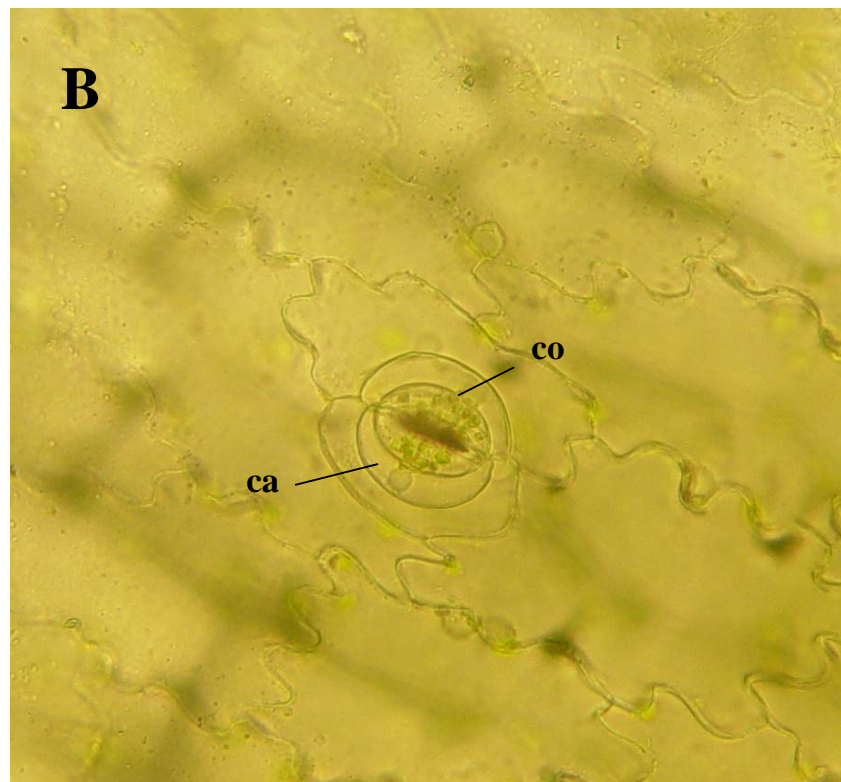
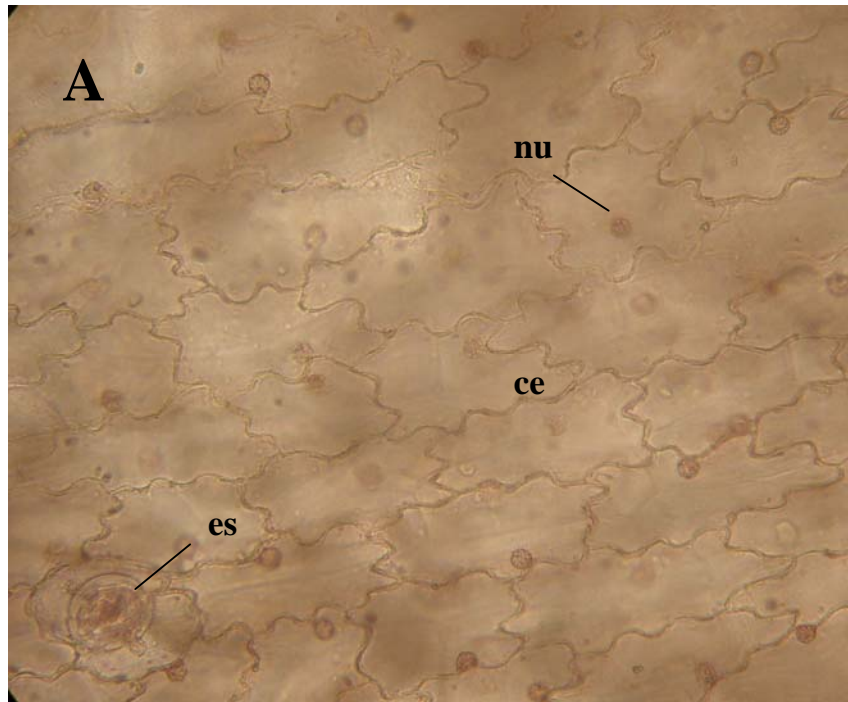


Fig. 5. Epidermis del hipocótilo de *T. candidans*, **A:** células epidérmicas típicas con contorno ondulado (40X), **B:** ampliación mostrando estoma de tipo paralelocítico con tres células anexas. Referencias, **ce:** célula epidérmica típica, **nu:** núcleo, **es:** estoma, **co:** célula oclusiva, **ca:** célula anexa.

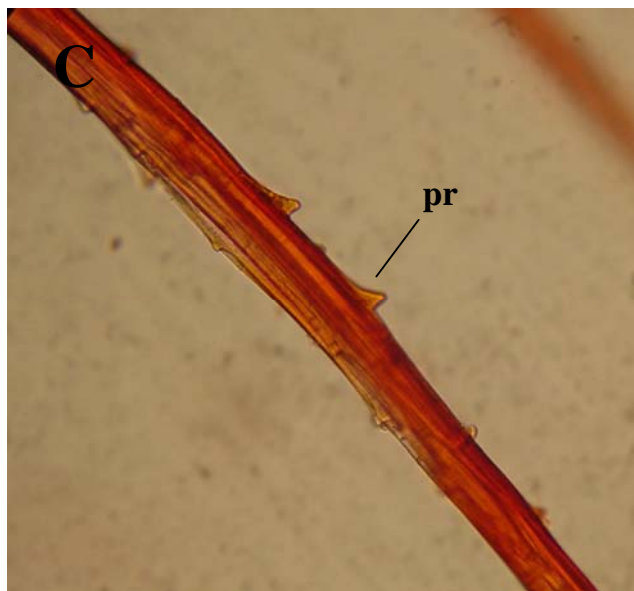
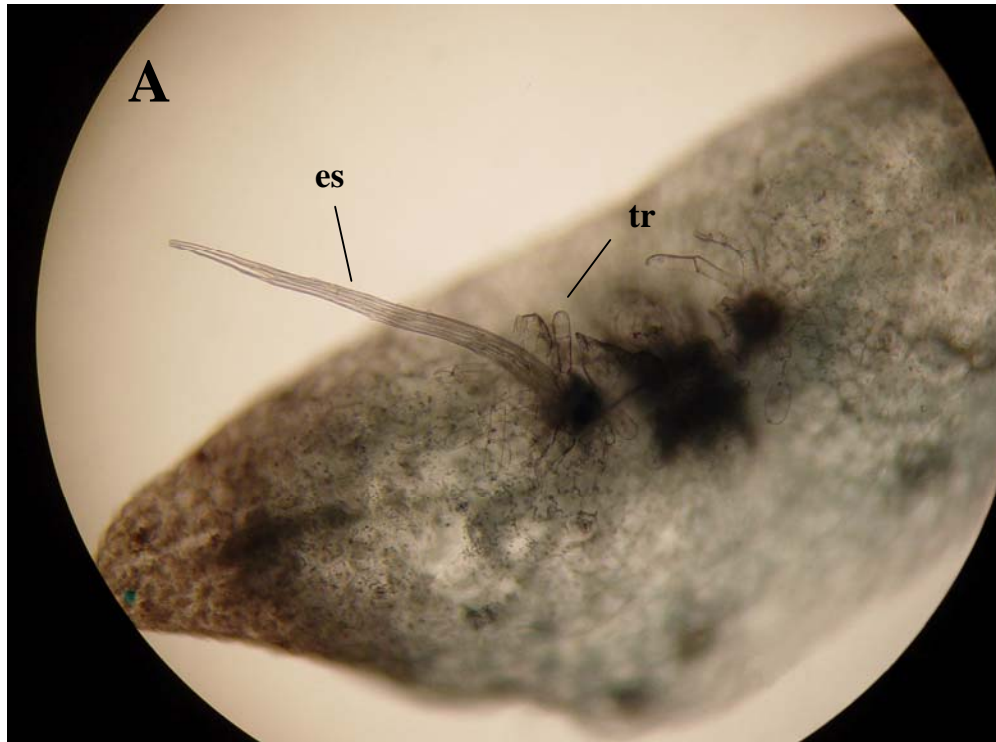


Fig. 6. Plántula de *T. candidans* (40X), **A:** areolas con tricomas y espinas, **B:** ampliación de tricomas, **C:** ampliación de espinas. Referencias, **es:** espina teñida con safranina, **tr:** tricomas, **pr:** proyecciones.

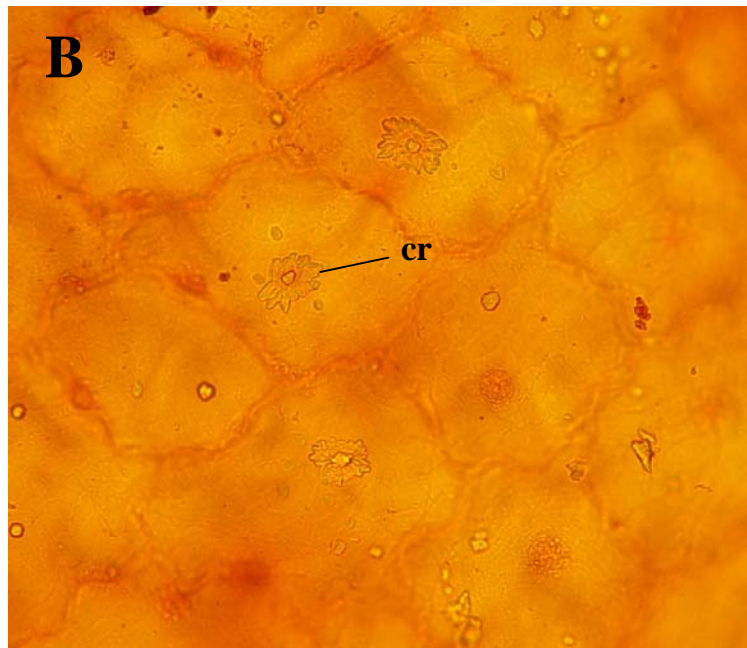
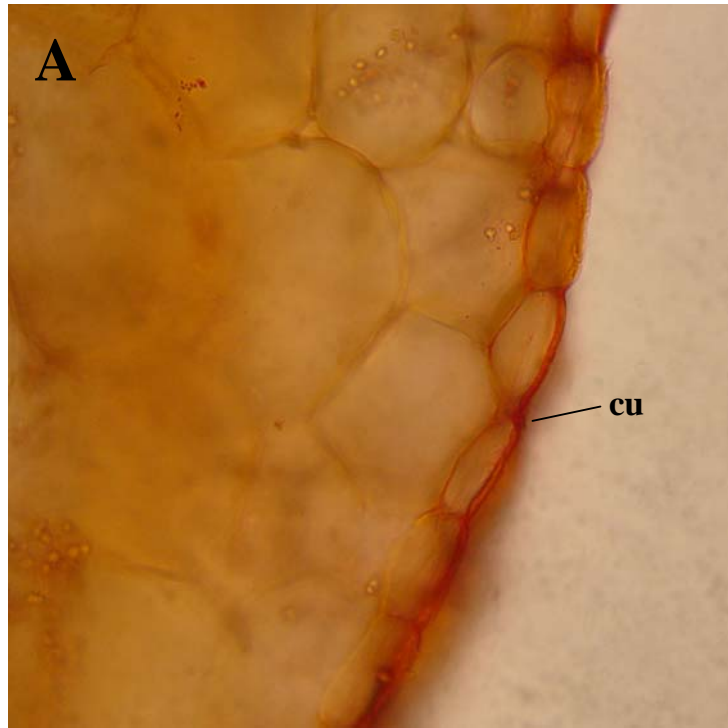


Fig. 7. Epidermis del hipocótilo de *T. candidans*, **A:** cutícula (10X), **B:** ampliación de células epidérmicas con cristales (40X). Referencias, **cu:** cutícula, **cr:** cristales.

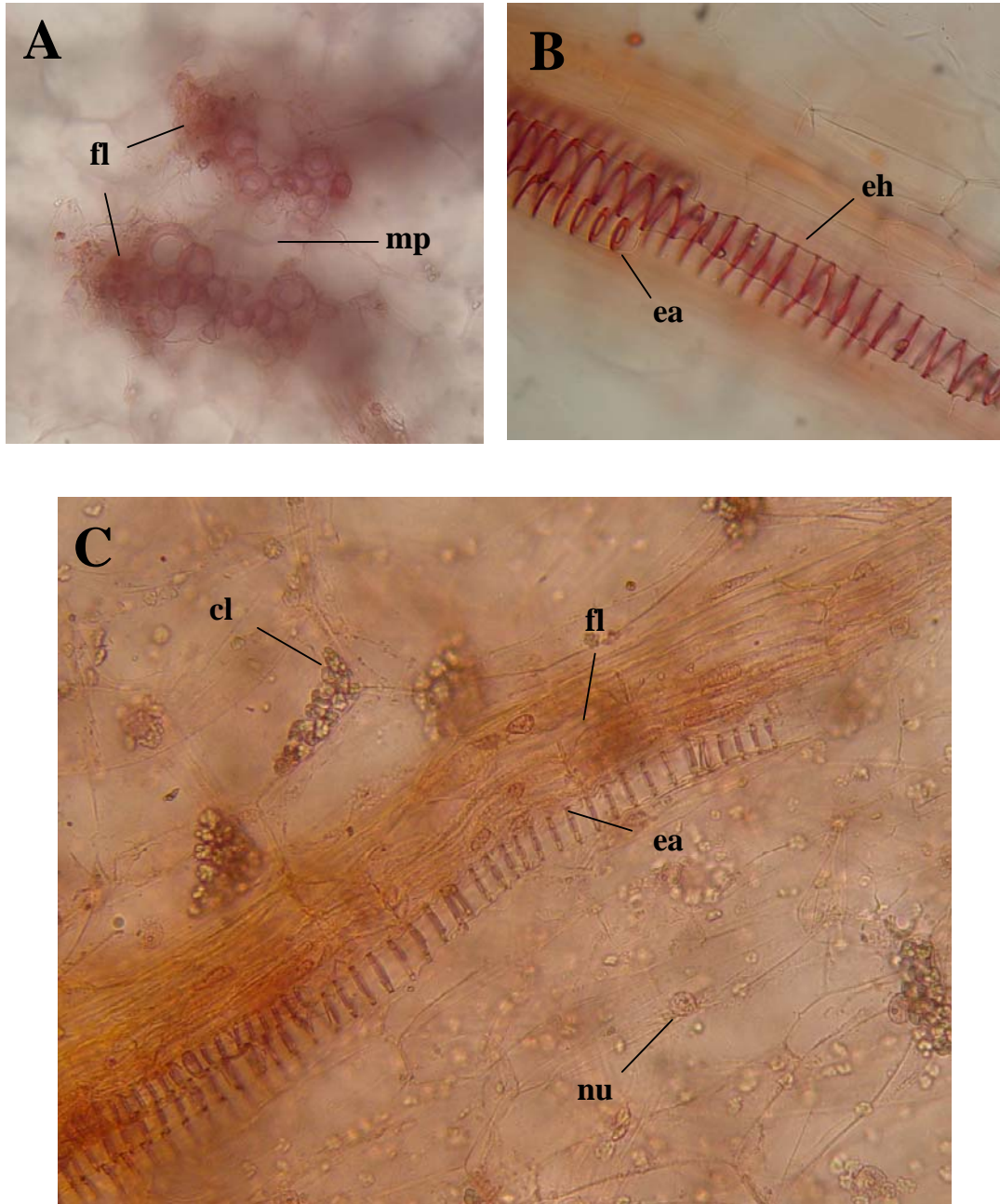


Fig. 8. Hipocótilo *T. candicans* en plántulas de 90 días (40 X), **A:** Corte transversal del hipocótilo al nivel de los dos haces vasculares. Se observa en cada haz el xilema en forma de arco y un cordón de floema en cada extremo. Médula parenquimática reducida, **B:** Detalle de elementos xilemáticos anillados (traqueidas de banda ancha), **C:** Corte longitudinal en el primer tercio del hipocótilo mostrando el detalle del tejido vascular. Referencias, **ea:** elementos xilemáticos anillados, **eh:** elementos xilemáticos helicoidales, **cl:** cloroplastos, **nu:** núcleo, **fl:** floema, **mp:** médula parenquimática.

Durante los ensayos de germinación de *T. candicans*, de un total de 300 plántulas se observaron seis individuos con tres cotiledones equidistantes con un primordio de aréola en la base de cada uno de ellos (Figs. 9A, 10). Se realizaron cortes histológicos a mano alzada que mostraron la presencia de un haz vascular en cada cotiledón (Fig. 10B).

También se observó una plántula de *T. candicans* con tres cotiledones dos en posición opuesta y otro en posición lateral, cada cotiledón con un primordio de areola y con un haz vascular (Figs. 9B, 11A y B).

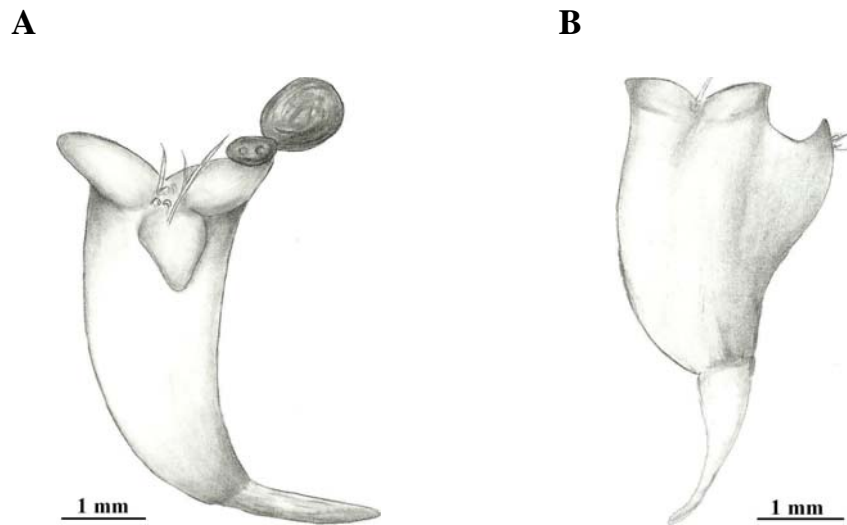


Fig. 9. Plántulas de *T. candicans*, **A:** plántula con tres cotiledones equidistantes y **B:** plántula con tres cotiledones, dos en posición opuesta y uno lateral.

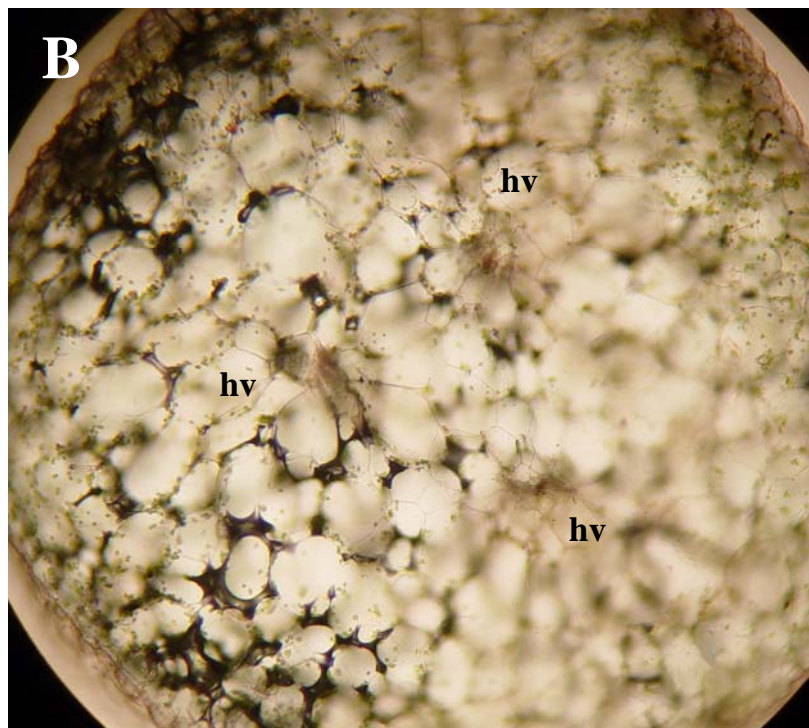
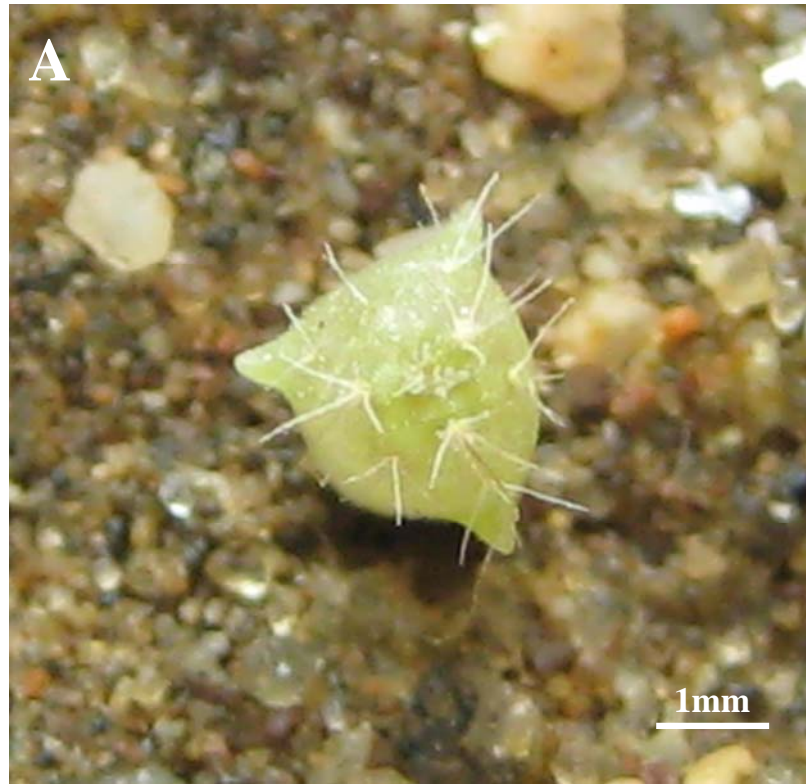


Fig. 10. Plántula de *T. candidans* con tres cotiledones equidistantes, **A:** Plántula vista desde arriba, **B:** corte transversal del hipocótilo con tres haces vasculares equidistantes (40X). Referencia, **hv:** haz vascular.

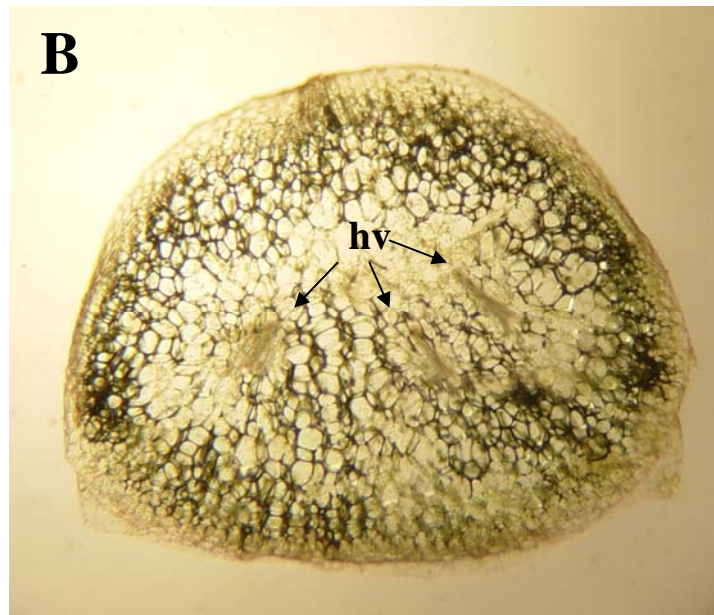
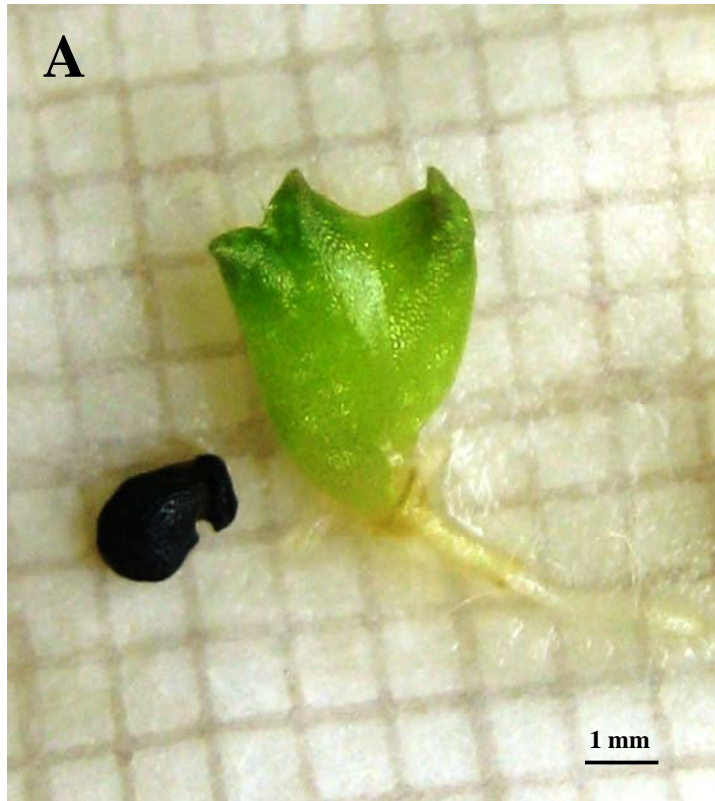


Fig. 11. Plántula de *T. candidans* con dos cotiledones opuestos y uno lateral, **A:** vista lateral, **B:** corte transversal del hipocótilo con tres haces vasculares no equidistantes (10X). Referencia, **hv:** haz vascular.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Durante el proceso de germinación, el tegumento seminal de *T. candicans* se abre debajo de la escama hilar, es decir, forma un opérculo y una zona de grietas laterales predeterminadas. Este tipo de germinación denominada opercular, es el más frecuente en las cactáceas nativas de América del Sur, y permite que las semillas germinen rápidamente cuando las condiciones son favorables (Bregman & Bouman, 1983). La plántula de *T. candicans* presenta la morfología típica de Cactaceae, con radícula delgada, hipocótilo suculento y dos cotiledones pequeños y carnosos (Gibson & Nobel, 1986).

El crecimiento de la plántula es muy lento, sin embargo el desarrollo de la raíz desde la germinación es muy rápido. Aún antes de la emergencia del hipocótilo, ya es posible observar gran cantidad de pelos radicales largos y abundantes sobre toda la superficie. Esta característica aumentaría enormemente la superficie radical, permitiendo la rápida absorción de grandes cantidades de agua desde la germinación y favoreciendo la reserva de agua en el hipocótilo (Dubrovsky, 1997; Dubrovsky & Gómez-Lomeli, 2003; Loza-Cornejo *et al.*, 2003). La ausencia de cofia y la pronta aparición de las ramificaciones laterales durante las primeras semanas de vida, junto al cese temprano del crecimiento en longitud del eje principal de la raíz, sugieren que dicho eje tiene un crecimiento definido según el patrón descrito por Dubrovsky (1997). Dicho autor describe para *Stenocereus gummosus*, *Ferocactus peninsulae* y *Pachycereus pringlei*, la forma en que el agotamiento temprano del meristema apical de la raíz provoca la desaparición de la cofia (decapitación fisiológica de la raíz) e induce la iniciación de las raíces laterales (Dubrovsky, 1997; Dubrovsky & Gómez-Lomeli, 2003).

En las primeras cuatro semanas de vida de las plántulas de *T. candicans* ocurren los mayores cambios morfológicos en el eje hipocótilo-cotiledonar. Se produce la aparición de las primeras areolas con tricomas y espinas, y se ensancha el epicótilo hasta hacerse visible. Debido al lento desarrollo de las plántulas las costillas características de la especie no se observaron hasta después del año de vida (observación personal en invernáculo).

La epidermis de las plántulas de *T. candicans* es uniestrata con cutícula típica de la subfamilia Cactoideae (Gibson & Nobel, 1986; Terrazas & Arias, 2003). Las células epidérmicas poseen paredes anticlinales onduladas similares a lo reportado por Loza-Cornejo y colaboradores (2003) en plántulas *Stenocereus queretaroensis*. En dicho estudio las células epidérmicas de plántulas y tallos adultos diferían, ya que estos últimos presentan paredes anticlinales rectas y divisiones secundarias. Los estomas de *T. candicans*

son de tipo paralelocítico coincidiendo con lo descrito por Egli (1984) para otras especies del género *Trichocereus*. En las células epidérmicas también se distingue la presencia de drusas. Los cristales prismáticos y las drusas son los tipos más comunes de cristales que se encuentran en la subfamilia Cactoideae (Terrazas & Arias, 2003), pero es poco común encontrarlas en la epidermis. En general las drusas han sido reportadas en el córtex de plántulas de *Rhipsalis* (Secorun & de Souza, 2011), *Lepismium* (Secorun & de Souza, 2011) y *Cephalocereus* (Barcenas-Argüello, 2011), pero no en la epidermis. Numerosos investigadores proponen que los cristales tienen funciones de soporte mecánico, defensa de la plántula ante la herbivoría y además podrían evitar el colapso celular cuando el tejido pierde la succulencia (Gibson & Nobel, 1986; Terrazas & Mauseth, 2002; Ayala-Cordero *et al.*, 2006; Barcenas-Argüello, 2011). Por otra parte, si bien se ha propuesto utilizar los cristales para la diferenciación de géneros o especies relacionados no existe consenso aún entre los investigadores respecto a este tema (Gibson & Nobel, 1986; Terrazas & Arias, 2003; Tovar-Puente, *et al.*, 2007). Sería fundamental realizar más estudios para profundizar en esta temática. El xilema de las plántulas de *T. candicans* está constituido por traqueidas de banda ancha. Este tipo de traqueidas es característico de la tribu Trichocereae en el estadio de plántula (Mauseth, 2004).

Más allá del período de estudio, las plantas que se conservaron bajo condiciones de invernáculo no mostraron cambios evidentes en tamaño y forma hasta varios meses después de la reabsorción de los cotiledones (observación personal). Esta observación evidencia el lento crecimiento de esta especie aún cuando el agua no fue limitante.

El desarrollo de plántulas de *T. candicans* con tres cotiledones evidencia la presencia de teratologías en la especie. Se denomina teratología al estudio de las malformaciones congénitas que producen desviaciones serias o monstruosas de las formas normales de crecimiento de un organismo (Mata & Quevedo, 1998). En la familia Cactaceae se han descrito teratologías en *Pterocactus tuberosus* (Ruiz Leal, 1946), *Echinocereus sp.* (Boke & Ross, 1978) y *Pachycereus pringlei* (Ortega-Rubio & León, 1996), caracterizadas por un tipo de crecimiento anormal denominado fasciación que produce tejidos aplanados, crestados o sinuosos. Otro fenómeno teratológico, que se presenta a veces en especies de *Opuntia*, es la inclusión del ovario de una flor en el ápice de una rama (Bravo-Holis, 1978). La variación en el número normal de cotiledones también ocurre, y en algunas plantas puede ser considerado una malformación. Este tipo de teratología se ha informado en cientos de especies de más de 15 familias de plantas entre las que se destacan las familias Cactaceae, Mirtaceae, Loranthaceae, Caryophyllaceae,

Brassicaceae, Degeneriaceae, Apiaceae, Solanaceae, Asteraceae y Pinaceae (Went, 1944; Haskell, 1954; Harrison, 1964; Conner & Agrawal, 2005; García de Almeida *et al.*, 2009; Secorun & de Souza, 2011). La diferente disposición de los haces vasculares en el hipocótilo de las plántulas de *T.candicans* con tres cotiledones sugiere variaciones en la teratologías. Si bien la presencia de tres cotiledones es una anomalía que ha sido observada en cactáceas, estos serían los primeros registros para *T. candicans*. No existe acuerdo entre los investigadores acerca de la causas que llevan a la formación de un tercer cotiledón y la función del mismo durante el desarrollo de la plántula (Conner & Agrawal, 2005; Hu *et al.*, 2005).

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, acerca de los requerimientos germinativos y desarrollo temprano de las plántulas, constituyen un aporte significativo al conocimiento de *T. candicans*. Además proporcionan información básica para la realización de futuros estudios que permitan entender la fisiología y la ecología de la especie.

La información referente a la germinación de *T. candicans* proporciona herramientas para la obtención de plantines con fines de restauración y/o comerciales. Este conocimiento debería complementarse con futuros estudios que determinen las condiciones en que *T. candicans* puede ser reintroducido en su ambiente natural. Para definir las condiciones óptimas para el trasplante de los individuos obtenidos en vivero sería importante analizar las características de distintos micrositios y comparar la supervivencia de las plántulas entre los mismos. Asimismo, también sería relevante comparar la supervivencia a campo de distintos tamaños de plantines y los tipos de sustratos que se utilicen para la producción de los mismos. En conjunto este conocimiento permitiría desarrollar recomendaciones para la reintroducción de la especie dentro del marco de estrategias de manejo y conservación de las poblaciones naturales.

BIBLIOGRAFIA

- ANDERSON, E. F. 2001. *The cactus Family*. Timber Press, Portland.
- AYALA-CORDERO, G., T. TERRAZAS, L. LÓPEZ-MATA & C. TREJO. 2006. Morpho-anatomical changes and photosynthetic metabolism of *Stenocereus beneckeii* seedlings under soil water deficit. *J. Exp. Bot.* 57: 3165-3174.
- BAKER, M. A. & R. A. JOHNSON. 2000. Morphometric analysis of *Escobaria sneedii* Var. *sneedii*, *E. sneedii* Var. *leei*, and *E. guadalupensis* (Cactaceae). *Syst. Bot.* 25: 577-587.
- BARCENAS-ARGÜELLO, M. L. 2011. Distribucion ecológica del subgénero *Neodawsonia* Backeb. Del género *Cephalocereus* Pfeiff. (Cactaceae) en el Istmo de Tehuantepec, México. Tesis de Doctorado en Ciencias. Montecillo, Texcoco, Edo. de México.
- BATANOUNY, K. H. & H. ZIEGLER. 1971. Eco-physiological studies on desert plants II. Germination of *Zygophyllum coccineum* L. Seeds under different conditions. *Oecologia* 8: 52-63.
- BOKE, N. H. & R. G. ROSS. 1978. Fasciation and dichotomous branching in *Echinocereus* (Cactaceae). *Am. J. Bot.* 65: 522-530.
- BOKE, N. H. 1980. Developmental morphology and anatomy in Cactaceae. *Bioscience* 30: 605-610.
- BRAVO-HOLLIS, H. 1978. *Las cactáceas de México*. Vol. I. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- BREGMAN, R. & F. BOUMAN. 1983. Seed germination in Cactaceae. *Bot. J. Linn. Soc.* 86: 357-374.
- CABRERA, A. L. 1976. Regiones Fitogeográficas Argentinas. En: *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*, tomo 2, pp. 1-85. Ed. ACME, Buenos Aires.
- CERVERA, J. C., J. L. ANDRADE, J. L. SIMÁ & E. A. GRAHAMY. 2006. Microhabitats, germination, and establishment for *Mammillaria gaumeri* (cactaceae), a rare species from Yucatan. *Int. J. Plant Sci.* 167: 311-319.

- CONNER, J. K. & A. A. AGRAWAL. 2005. Mechanisms of constraints: the contributions of selection and genetic variance to the maintenance of cotyledon number in wild radish. *J. Evolution. Biol.* 18: 238-242.
- CITES. 2008. Convention on international trade in endangered species. *En: Apendices I, II and II to the Convention. En: (http://www.cites.org/, 17 Noviembre 2008).*
- DE LA BARRERA, E. & P. S. NOBEL. 2003. Physiological ecology of seed germination for the columnar cactus *Stenocereus queretaroensis*. *J. Arid. Environ.* 53: 297-306.
- DUBROVSKY, J. G. 1997. Determinate primary-root growth in seedlings of Sonoran Desert Cactaceae; its organization, cellular basis, and ecological significance. *Planta* 203: 85-92.
- DUBROVSKY, J. G. 1998. Discontinuous hydration as a facultative requirement for seed germination in two cactus species of the Sonoran Desert. *J. Torrey. Bot. Soc.* 125: 33-39.
- DUBROVSKY, J. G. & L. F. GÓMEZ-LOMELI. 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). *Am. J. Bot.* 90: 823-831.
- EGGLI, U. 1984. Stomatal types of Cactaceae. *Pl. Syst. Evol.* 146: 197-214.
- FLORES, J. & O. BRIONES. 2001. Plant life-form and germination in a Mexican inter-tropical desert: effects of soil water potential and temperature. *J. Arid. Environ.* 47: 485-497.
- FLORES, J., E. JURADO, L. CHAPA-VARGAS, A. CERONI-STUVA, P. DÁVILA-ARANDA, G. GALÍNDEZ, D. GURVICH, P. LEÓN-LOBOS, C. ORDÓÑEZ, P. ORTEGA-BAES, N. RAMÍREZ-BULLÓN, A. SANDOVAL, C. E. SEAL, T. ULLIAN, & H. W. PRITCHARD. 2011. Seeds photoblastism and its relationship with some plant traits in 136 cacti taxa. *Environ. Exp. Bot.* 71: 79-88.
- GARCÍA AGUILAR, M. A., T. TERRAZAS & S. ARIAS. 2009. Stem anatomy of three species of genus *Hylocereus* (Berger) Britton & Rose (Cactaceae) in México. *Rev. Fitotec. Mex.* 32: 201-208.

- GARCIA DE ALMEIDA, O. J., L. A. DE SOUZA & I. S. MOSCHETA. 2009. Morfoanatomía da plântula de indivíduos somaclones de *Cereus hildmannianus* Schumann (Cactaceae). *Bol. Soc. Latin. Carib. Cact. Suc.* 6: 29-35.
- GIBSON, A. C & P. S. NOBEL. 1986. *The cactus primer*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- GODÍNEZ-ÁLVAREZ H., T. VALVERDE & P. ORTEGA-BÁES. 2003. Demographic trends in the Cactaceae. *Bot. Rev.* 69: 173-203.
- GURVICH, D. E., G. FUNES, M. A. GIORGIS & P. DEMAIO. 2008. Germination characteristics of four Argentinean endemic *Gymnocalycium* (Cactaceae) species with different flowering phenologies. *Nat. Area. J.* 28: 104-108.
- HARRISON, B. J. 1964. Factors affecting the frequency of tricotily in *Antirrhinum majus*. *Nature* 201: 424.
- HASKELL, G. 1954. Pleiocotyly and differentiation within angiosperms. *Phytomorphology* 4: 140-152.
- HERRERA-CÁRDENAS, R., T. TERRAZAS & S. LOZA-CORNEJO. 2000. Anatomía comparada del tallo y de la raíz de las especies del genero *Neoevansia marshall* (CACTACEAE). *B. Soc. Bot. México* 67: 5-16.
- HU, J., J. F. MILLER, J. CHEN & B. A. VICK. 2005. Preliminary observation on a spontaneous tricotyledonous mutant in sunflower. *Res. Workshop Proc.* 27th Sunflower Research Workshop, January 12-13, 2005, Fargo, ND.
- INSTITUTO DE BOTÁNICA DARWINION. 2011. Catálogo de las Plantas Vasculares del Conosur. *En:* (<http://www2.darwin.edu.ar/Proyectos/FloraArgentina/FA.asp>), 27 de Noviembre 2011).
- INTA, PROVINCIA DE LA PAMPA & FACULTAD DE AGRONOMÍA 1980. Inventario integrado de los recursos naturales de La Pampa. Clima, geomorfología, suelo y vegetación. Universidad Nacional de La Pampa, Santa Rosa, La Pampa.
- KIESLING, R. 1978. El género *Trichocereus* (Cactaceae) Apéndice I: Las especies de la República Argentina. *Darwiniana* 21: 263-330.
- KIESLING, R. & O. E FERRARI. 2005. *100 Cactus Argentinos*. Ed. Albatros, pp. 56-57. Argentina.

- KIGEL, J. 2001. *Seed development and germination*. Marcel Dekker, New York.
- LAMBERS, H., F. CHAPIN III & T. PONS. 1998. *Plant physiological ecology*. Springer-Verlag. New York, USA.
- LOZA-CORNEJO, S. & T. TERRAZAS. 2003. Epidermal and hypodermal characteristics in North American Cactoideae (Cactaceae). *J. Plant Res.* 116: 27-35.
- LOZA-CORNEJO, S., T. TERRAZAS, L. LÓPEZ MATA & C. TREJO. 2003. Características morfo-anatómicas y metabolismo fotosintético en plántulas de *Stenocereus queretaroensis* (cactaceae): su significado adaptativo. *Interciencia* 28: 83-89.
- LOZA-CORNEJO, S. & T. TERRAZAS. 2011. Morfo-anatomía de plántulas en especies de *Pachycereeae*: ¿hasta cuándo son plántulas?. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 88: 1-13.
- MATA, A. & F. QUEVEDO. 1998. *Diccionario didáctico de ecología*. Editorial de la Universidad de Costa Rica (UCR). San José, Costa Rica.
- MAUSETH, J. D. 1978a. An investigation of the morphogenetic mechanisms which control the development of zonation in seedling shoot apical meristems. *Am. J. Bot.* 65: 158-167.
- MAUSETH, J. D. 1978b. An investigation of the phylogenetic and ontogenetic variability of shoot apical meristems in the Cactaceae. *Am. J. Bot.* 65: 326-333.
- MAUSETH, J. D. 1979a. Cytokinin-elicited formation of the pith-rib meristem and others effects of growth regulators on the morphogenesis of *Echinocereus* (Cactaceae) seedling shoot apical meristems. *Am. J. Bot.* 66: 446-451.
- MAUSETH, J. D. 1979b. Constancy of relative volumes of zones in shoot apical meristems in Cactaceae: implications concerning meristem size, shape, and metabolism. *Am. J. Bot.* 66: 933-939.
- MAUSETH, J. D. 1980. A morphometric study of the ultrastructure of *Echinocereus engelmannii* (Cactaceae). I. Shoot apical meristems at germination. *Am. J. Bot.* 67: 173-181.
- MAUSETH, J. D. 1981a. A morphometric study of the ultrastructure of *Echinocereus engelmannii* (Cactaceae). II. The mature, zonate shoot apical meristems. *Am. J. Bot.* 68: 96-100.

- MAUSETH, J. D. 1981b. A morphometric study of the ultrastructure of *Echinocereus engelmannii* (Cactaceae). III. Subapical and mature tissues. *Am. J. Bot.* 68: 531-534.
- MAUSETH, J. D. 1982a. A morphometric study of the ultrastructure of *Echinocereus engelmannii* (Cactaceae). IV. Leaf and spine primordia. *Am. J. Bot.* 69: 546-550.
- MAUSETH, J. D. 1982b. A morphometric study of the ultrastructure of *Echinocereus engelmannii* (Cactaceae). V. Comparison with the shoot apical meristems of *Trichocereus pachanoi* (Cactaceae). *Am. J. Bot.* 69: 551-555.
- MAUSETH, J. D. 1982c. A morphometric study of the ultrastructure of *Echinocereus engelmannii* (Cactaceae). VI. The individualized ultrastructures of diverse types of meristems. *Am. J. Bot.* 69: 1524-1526.
- MAUSETH, J. D. 1982d. A morphometric study of the ultrastructure of *Echinocereus engelmannii* (Cactaceae). VII. Homogeneity of zones in the shoot apical meristems. *Am. J. Bot.* 69: 1527-1529.
- MAUSETH, J. D. 1984. Effect of growth rate, morphogenic activity, and phylogeny on shoot apical ultrastructure in *Opuntia polycantha* (Cactaceae). *Am. J. Bot.* 71: 1283-1292.
- MAUSETH, J. D. 2004. Wide-band tracheids are present in almost all species of Cactaceae. *J. Plant Res.* 117: 69-76.
- MAUSETH, J. D. 2006. Structure-function relationships in highly modified shoots of Cactaceae. *Ann. Bot. London* 98: 901-926.
- MAZZOLA, M. B., A. G. KIN, E. F. MORICI, F. J. BABINEC & G. TAMBORINI. 2008. Efecto del gradiente altitudinal sobre la vegetación de las sierras de Lihue Calel (La Pampa, Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 43: 103-119.
- MÉNDEZ, E. 2007. Germination of *Denmoza rhodacantha* (Salm-Dyck) Britton & Rose (Cactaceae). *J. Arid Environ.* 68: 678-682.
- MÉNDEZ, E. 2010. Germinación de *Echinopsis leucantha* (Cactaceae). Efectos de la temperatura y luz. *Bol. Soc. Latin. Carib. Cact. Suc.* 7: 21-24.
- MÉNDEZ, E. 2011. Efecto de la temperatura y la luz sobre la germinación de semillas de *Trichocereus candicans* y *Trichocereus strigosus*. *Bol. Soc. Latin. Carib. Cact. Suc.* 8: 16-19.

- MICHEL, B. E. & D. R. KAUFMANN. 1973. The osmotic potencial of polyethylene glycol 6000. *Plant Phisiol.* 51: 914-916.
- MILBERG, P., L. ANDERSSON & K. THOMPSON. 2000. Large-seeded species are less dependent on light for germination than small-seeded ones: *Seed. Sci. Res.* 10: 99-104.
- MOLES, A. T. & M. WESTOBY. 2004. Seedling survival and seed size: a synthesis of the literature. *J. Ecol.* 92: 372-383.
- NOBEL, P. S. 1988. *Environmental biology of agaves and cacti*. Cambridge University Press, New York, USA.
- OLDFIELD, S. 1997. *Cactus and succulent plants-status survey and conservation action plan*. IUCN/SSC Cactus and Succulent Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
- ORTEGA-BAES, P. & H. GODÍNEZ-ÁLVAREZ. 2006. Global diversity and conservation priorities in the Cactaceae. *Biodivers. Conserv.* 15: 817-827.
- ORTEGA-BAES, P. & M. ROJAS-ARÉCHIGA. 2007. Seed germination of *Trichocereus terscheckii* (Cactaceae): Light, temperature and gibberellic acid effects. *J. Arid. Environ.* 69: 169-176.
- ORTEGA-BAES, P., G. APARICIO-GONZÁLEZ, G. GALÍNDEZ, P. DEL FUEYO, S. SUHRING & M. ROJAS-ARÉCHIGA. 2010. Are cactus growth forms related to germination responses to light? A test using *Echinopsis* species. *Acta Oecol.* 36: 339-342.
- ORTEGA-BAES, P., G. GALÍNDEZ, S. SÜHRING, M. ROJAS-ARÉCHIGA, M. I. DAWS & H. W. PRITCHARD. 2011. Seed germination of *Echinopsis schickendantzii* (Cactaceae): the effects of constant and alternating temperatures. *Seed. Sci. Technol.* 39: 219-224.
- ORTEGA-RUBIO, A. & J. L. LEÓN. 1996. Reporte sobre una anomalía de crecimiento de *Pachycereus pringlei*. *Cact. Suc Mex.* 41: 80-83.
- PROBERT, R. J. 1992. *The role of temperature in germination ecophysiology*. In: Fenner, M. (ed.). *Seeds. The ecology of regeneration in plant communities*, pp. 285-325. CAB International, United Kingdom.

- REDDY, L. V., R. J. METZGER & T. M. CHING. 1985. Effect of temperature on seed dormancy of wheat. *Crop Sci.* 25: 455-458.
- ROJAS-ARÉCHIGA, M. 1995. Estudios sobre la germinación de cactáceas del Valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla. Tesis de Maestría en Ciencias (Biología) UNAM. Facultad de Ciencias. México D.F.
- ROJAS-ARÉCHIGA, M., C. VÁZQUEZ-YANES & A. OROZCO-SEGOVIA. 1998. Seed response to temperature of Mexican cacti species from two life forms, an ecophysiological interpretation. *Plant Ecol.* 135: 207-214.
- ROJAS-ARÉCHIGA, M & C. VÁZQUEZ-YANES. 2000. Cactus seed germination: a review. *J. Arid. Environ.* 44: 85-104.
- RUIZ-LEAL, A. 1946. Teratología en “*Pterocactus*” (Cactaceae Opuntioidea). *Rev. Bot. Instituto “Miguel Lillo”* 12: 61-66.
- SALLES, H. G. 1987. Expressão morfológica de sementes e plântulas *Cephalocereus fluminensis* (MIQ) Britton E Rose (Cactaceae). *Rev. b. Sementes* 9: 73-81.
- SECORUN, A. C. & L. A. DE SOUZA. 2011. Morphology and anatomy of *Rhipsalis cereuscula*, *Rhipsalis floccosa* subsp. *hohenauensis* and *Lepismium cruciforme* (Cactaceae) seedlings. *Rev. Mex. Biodiv.* 82: 131-143.
- SERVICIO METEOROLÓGICO NACIONAL. 2011. Climatología: mapas normales 1961-1990. *En:*(<http://www.smn.gov.ar/?mod=bdatos&id=1>, 23 de febrero de 2012).
- TERRAZAS, T. & J. D. MAUSETH. 2002. Shoot anatomy and morphology. *In:* P. S. Nobel (ed), *Cacti: biology and uses*, pp. 23-40. University of California Press. Berkeley, California.
- TERRAZAS, T. & S. ARIAS. 2003. Comparative stem anatomy in the Subfamily Cactoideae. *Bot. Rev.* 68: 444-473.
- TERRAZAS, T., S. LOZA-CORNEJO & H. J. ARREOLA-NAVA. 2005. Anatomía caulinar de las especies del género *Stenocereus* (Cactaceae). *Acta Bot. Venez.* 28: 321-336.
- TOVAR-PUENTE, A., M. PANDO-MORENO, H. GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, L. SCOTT-MORALES & S. D. J. MÉNDEZ-GALLEGOS. 2007. Densidad de cristales de oxalato de calcio en quince cultivares de nopal. *J. Prof. Assoc Cactus* 9: 91-98.

WENT, F. W. 1944. Morphological observations on the tomato plant. *Bull. Torrey bot. Club* 71: 77-92.