

**Universidad Autónoma de Querétaro**

**Facultad de Ciencias Naturales**

“Organización vascular asociada a las tasas de crecimiento en dos especies morfológicamente diferentes de *Beaucarnea*”

**Tesis**

**Que como parte para obtener el grado de  
Licenciado en Biología**

**Presenta:**

**Blanca Itzel Patiño González**

**Dirigido por:**

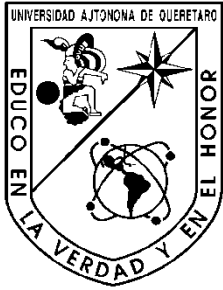
**Dr. Luis G. Hernández Sandoval**

**Centro Universitario**

**Septiembre 2013**

**Querétaro, Qro.,**

**México.**



**Universidad Autónoma de Querétaro**  
**Facultad de Ciencias Naturales**  
**Licenciatura en Biología**



**“Organización vascular asociada a las tasas de crecimiento en dos especies morfológicamente diferentes de *Beaucarnea*”**

**TESIS**

Que como parte de los requisitos para obtener el título de

**Licenciada en Biología**

Presenta:

**Blanca Itzel Patiño González**

Dirigido por:

**Luis G. Hernández Sandoval**

**SINODALES**

**Dr. Luis G. Hernández Sandoval**

**Presidente**

\_\_\_\_\_  
**Firma**

**Dra. Mahinda Martínez y Días de Salas**

**Secretario**

\_\_\_\_\_  
**Firma**

**M. en C. Maricela Gómez Sánchez**

**Vocal**

\_\_\_\_\_  
**Firma**

**Biól. Oliva Ramírez Segura**

**Suplente**

\_\_\_\_\_  
**Firma**

**Centro Universitario**

**Septiembre 2013**

**Querétaro, Qro.,**

**México.**

## RESUMEN

En las monocotiledóneas la organización vascular no ha sido totalmente comprendida en la formación de las morfologías. El presente trabajo examinó el desarrollo de los tejidos vasculares y la activación de los meristemos en dos especies del género *Beaucarnea*. *B. pliabilis* que muestra un tallo alargado, con hojas agrupadas en roseta y ramas delgadas. Y *B. gracilis* con un engrosamiento ancho y circular en la base del tallo y ramificaciones gruesas. Para caracterizar su crecimiento se hicieron cortes histológicos por micrótomo de parafina en plántulas de dos, cuatro y seis meses de edad que se tiñeron con verde rápido y safranina y se observaron al microscopio de luz. Durante los primeros meses *B. pliabilis* formó haces vasculares primarios embebidos en una matriz de parénquima, además de numerosos primordios foliares. Al transcurrir los meses, esta especie mostró haces vasculares primarios y secundarios diferenciados en un parénquima de proliferación. Por su parte, *B. gracilis* registró únicamente tejido vascular primario en abundante parénquima con crecimiento radial durante los seis meses de observación. Concluimos que el desarrollo vascular en ambas especies es diferenciado y particularmente en *B. pliabilis* la aparición de tejidos primarios y secundarios a temprana edad influye en la formación de numerosas hojas con una morfología de tallo alargado y sin una base globosa. En *B. gracilis* el crecimiento de la base se da por la división celular en el parénquima y crecimiento radial del meristemo primario y no por el engrosamiento de un meristemo secundario.

**(Palabras clave: Haces vasculares, Tejido vascular primario, Tejido vascular secundario, *Beaucarnea pliabilis*, *Beaucarnea gracilis*)**

## ABSTRACT

In the Monocotyledons, the vascular organization has not been totally understood in the morphology formation. The present study examined the vascular tissues development and the meristems activation of two species of *Beaucarnea*. *B. pliabilis* shows an elongated stem with thin branches, and leaves grouped in a rosette. And *B. gracilis* with a thick wide circular base of the stem and thick branches, also with leaves grouped in a rosette. To characterize their growth, histological samples of seedlings from two, four and six months old, were made using a microtome of paraffin, stained with safranin and fast green, and observed under light microscope. During the first months *B. pliabilis* formed primary vascular bundles embedded in a matrix of parenchyma, and numerous leaf primordia. At the next months, this species showed primary and secondary vascular bundles differentiated parenchyma proliferation. Whereas *B. gracilis* only presented primary vascular tissue parenchyma with abundant radial growth during the six months of observation. The conclusion is that vascular development in both species is differentiated, and particularly in *B. pliabilis* the occurrence of primary and secondary tissue, early influences the formation of numerous sheets with an elongated morphology without a wide stem base. In *B. gracilis*, the basal growth occurs by cell division in the parenchyma and radial growth of the primary meristem, and not by the thickening of a secondary meristem.

**(Keywords: Vascular bundles, Primary tissue, Secondary tissue, *Beaucarnea pliabilis*, *Beaucarnea gracilis*)**

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres por ser mi máximo apoyo les debo este logro, porque todos los sacrificios los pasamos juntos y sin su presencia no habría sido de ningún modo posible.

A La Dra. Mahinda Martínez y al Dr. Luis Hernández por transmitirme su entusiasmo por la investigación y la botánica y por brindarme su apoyo y orientación en las distintas etapas del proyecto.

A la Mtra. Maricela Gómez Sánchez por su asesoría en el proyecto.

A Lic. Oliva Ramírez Segura por sus consejos y asesoría durante todo el proyecto.

A la Dra. Guadalupe Malda Barrera por proporcionarme el espacio para trabajar en el laboratorio de plantas vivas y cultivo vegetal.

A Karina Luna Maldonado (Kara) por su amistad y comprensión a lo largo del proyecto.

A la Dra. Mónica Figueroa por su asistencia en el análisis Bioestadística de este proyecto.

A todos mis maestros que me guiaron y me inspiraron en la biología no sólo como un campo de trabajo sino como una forma de vida.

## DEDICATORIA

A toda mi familia. En especial a mi hijo Ángel Karim porque su llegada cambió mi vida y me inspiró a concluir este logro.

## ÍNDICE

RESUMEN .....	I
ABSTRACT .....	II
AGRADECIMIENTOS .....	III
DEDICATORIA.....	IV
ÍNDICE .....	V
INDICE DE TABLAS.....	VII
INDICE DE FIGURAS .....	1
<b>I INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>2</b>
<b>II ANTECEDENTES .....</b>	<b>3</b>
II.1.- Tejidos de desarrollo vegetal: meristemos y tejidos vasculares .....	5
II.2.- El género <i>Beaucarnea</i> .....	7
II.3.- Descripción de las especies de estudio .....	7
II.3.1. <i>Beaucarnea pliabilis</i> (Baker) Rose.....	7
II.3.2. <i>Beaucarnea gracilis</i> Lemaire. ....	8
II.4.- Cultivo y germinación de <i>Beaucarnea</i> .....	9
<b>III JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>9</b>
<b>IV HIPÓTESIS .....</b>	<b>9</b>
<b>V OBJETIVOS.....</b>	<b>10</b>
V.1.- Objetivo general.....	10
V.2.- Objetivos particulares .....	10
<b>VI MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>11</b>
VI.1.- Siembra y germinación .....	11
VI.2.- Anatomía comparada.....	13
<b>VII RESULTADOS.....</b>	<b>15</b>
VII.1. Siembra y germinación .....	15
VII.2. Anatomía comparada.....	16

VII.2.1.-Dos meses de edad.....	16
VII.2.2.-Cuatro meses de edad .....	19
VII.2.3.-Seis meses de edad .....	24
<b>VIII DISCUSIÓN.....</b>	<b>29</b>
VIII.1. Siembra y germinación .....	28
VIII.2. Anatomía comparada.....	28
VIII.2.1.-Dos meses de edad.....	29
VIII.2.2.-Cuatro meses de edad .....	30
VIII.2.3.-Seis meses de edad .....	30
<b>IX CONCLUSIONES.....</b>	<b>32</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA:.....</b>	<b>33</b>



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Receta para preparar medio MS basal mediante dos concentraciones .....	12
Tabla 2. Colecta de plántulas de acuerdo a los periodos de observación y el tipo de corte. .....	12
Tabla 3. Alcoholes terbutilicos empelados para la deshidratación de las plántulas .....	14

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Esquema de los diferentes tipos de paredes de vasos del xilema.....	<b>6</b>
<b>Figura 2.</b> Individuo adulto de <i>Beaucarnea pliabilis</i> y <i>Beaucarnea gracilis</i> silvestre.....	<b>8</b>
<b>Figura 3.</b> Contenedores esteriles con medio MS y semillas de <i>B. gracilis</i> y <i>B. pliabilis</i> . ....	<b>11</b>
<b>Figura 4. 1.</b> Plántulas de <i>B. gracilis</i> de cuatro meses de edad.....	<b>13</b>
<b>Figura 5.</b> Efecto de la concentración de medio MS en dos experimentos individuales sobre la germinación de semillas de <i>Beaucarnea pliabilis</i> y <i>B. gracilis</i> . ....	<b>15</b>
<b>Figura 6.</b> Comparación morfológica en plántulas de dos meses de edad.....	<b>16</b>
<b>Figura 7.</b> Corte transversal en tallo de <i>B. gracilis</i> y <i>B. pliabilis</i> de dos meses de edad.....	<b>17</b>
<b>Figura 8.</b> Corte longitudinal en tallo de <i>B. gracilis</i> y <i>B. pliabilis</i> de dos meses de edad. ....	<b>18</b>
<b>Figura 9.</b> Comparación morfológica en plántulas de cuatro meses de edad de edad.....	<b>19</b>
<b>Figura 10.</b> Corte transversal de tallo de <i>B. gracilis</i> de cuatro meses de edad .....	<b>20</b>
<b>Figura 11.</b> Corte longitudinal del tallo de <i>B. gracilis</i> de cuatro meses de edad .....	<b>21</b>
<b>Figura 12.</b> Corte transversal de tallo de <i>Beaucarnea pliabilis</i> de cuatro meses de edad .	<b>22</b>
<b>Figura 13.</b> Corte longitudinal de tallo de <i>B. pliabilis</i> de cuatro meses de edad. ....	<b>23</b>
<b>Figura 14.</b> Comparación morfológica en plántulas de seis meses de edad de edad. ....	<b>24</b>
<b>Figura 15.</b> Corte transversal de tallo en <i>B. gracilis</i> de seis meses de edad. ....	<b>25</b>
<b>Figura 16.</b> Corte transversal de tallo de <i>B. pliabilis</i> de seis meses de edad.. ....	<b>26</b>
<b>Figura 17.</b> Corte longitudinal de tallo de <i>Beaucarnea gracilis</i> de seis meses de edad ....	<b>27</b>
<b>Figura 18.</b> Corte longitudinal de tallo de <i>B. pliabilis</i> de seis meses de edad.....	<b>28</b>

# I INTRODUCCIÓN

La morfología de las plantas se determina por el tiempo de activación de los meristemas (Bell y Bryan, 1991). Estos son zonas de crecimiento en las plantas situados en los brotes de raíz, tallo, flores y frutos. Durante años se ha mantenido el concepto de que en el crecimiento primario produce el alargamiento del organismo vegetal por el meristemo apical, mientras que el crecimiento secundario aumenta el diámetro de las plantas por los meristemas laterales ensanchando el tallo y la raíz. Según este planteamiento la mayoría de las plantas con ensanchamientos en el tallo deberían contener un crecimiento secundario y las que se mantienen con tallos delgados y prolongados deben tener un crecimiento primario. Los autores dedicados a esta área han tratado de asociar los meristemas con un tipo de crecimiento específico en las especies. Otros creen que la dificultad para hacerlo se debe a la ausencia de un cambium vascular como el que tiene la mayoría de las plantas. Existen muchas especies, y géneros que no obedecen esta regla y otras tantas que aún no se han estudiado. Bowes (2000) describe algunos tipos de crecimiento del tallo, alternos a la presencia de un meristemo secundario, ya sea un aumento de grosor por actividad del meristemo primario o por un meristemo secundario entrelazado con el meristemo primario. En base a estos supuestos se eligió el género *Beaucarnea* ya que presenta diferencias morfológicas entre sus especies y pocas veces se ha abordado para estudios de anatomía comparada. Se eligieron dos especies contrastantes, *B. plibilis* y *B. gracilis* para explicar el proceso de crecimiento primario y secundario y se realizaron cortes histológicos en tallos de dos, cuatro y seis meses de edad de cada especie a partir de la germinación en un plano longitudinal y transversal. Los tejidos encontrados en el desarrollo de cada etapa describen el desarrollo de los meristemas para la formación de morfologías.

## II ANTECEDENTES

Desde hace casi un siglo se ha tratado de definir el crecimiento de tallo en las monocotiledóneas y los tejidos implicados. La mayoría de los autores tienen sus interpretaciones con respecto a los meristemas. Skutch (1932) estudió el crecimiento secundario en el tallo de plátano (*Musa acuminata* Colla y *M. balbisiana* Colla) y comprobó la existencia de un tipo de *cambium* que aumentaba el grosor y el número de haces vasculares diferente al que se encuentra en las dicotiledóneas aunque no le refirió un nombre especial. Helm (1936) encontró en *Crinum moorei* Hook (Amaryllidaceae) un anillo de células meristemáticas que resultaban de la formación de un *procambium* con células similares a las del meristemo apical por su tamaño y forma pero sin desarrollar primordios foliares ya que se trataba del meristemo primario. Cheadle (1937) define la presencia de una zona de *cambium* y un anillo de crecimiento en el tallo al observar el tejido de 18 especies diferentes entre las que se mencionan: *Dracaena fragrans*, *Cordyline indevisa*, *Cordyline terminaliss* y *Yucca aloifolia*. Todos estos esfuerzos por definir el crecimiento primario culminaron con Ball en 1941 cuando atribuyó el término PTM (primary tickening meristem) en español MEP (meristemo de engrosamiento primario) al estudiar el tallo de *Phoenix canariensis* y encontrar diferencias en cortes histológicos a 5µm y 8µm, estos últimos rebasaban el área del meristemo apical dejando visible la zona del meristemo primario. Así al comparar las células de ápice con las del meristemo primario, describió un aumento considerable de volumen y una importante agrupación celular que partía del centro del tallo. Años después, Clowes (1958) sugirió el término STM (secondary tickening meristem) con base en sus estudios con células totipotenciales en diferentes especies de Cycadas. Habiéndose definido los dos principales meristemas, se comenzaron a estudiar los tipos de crecimiento asociados a estos. DeMason (1979) sugirió que para comprender el crecimiento primario habría que trabajar con tallos jóvenes en desarrollo y no sólo adultos que ya habían completado este proceso. DeMason realizó cortes histológicos en plántulas de *Allium cepa* (cebolla) a partir de veinte días de edad hasta los nueve meses y encontró que el tallo alcanzaba un engrosamiento por proliferación celular radial desde las seis semanas de edad hasta los nueve meses. Concluyó que este

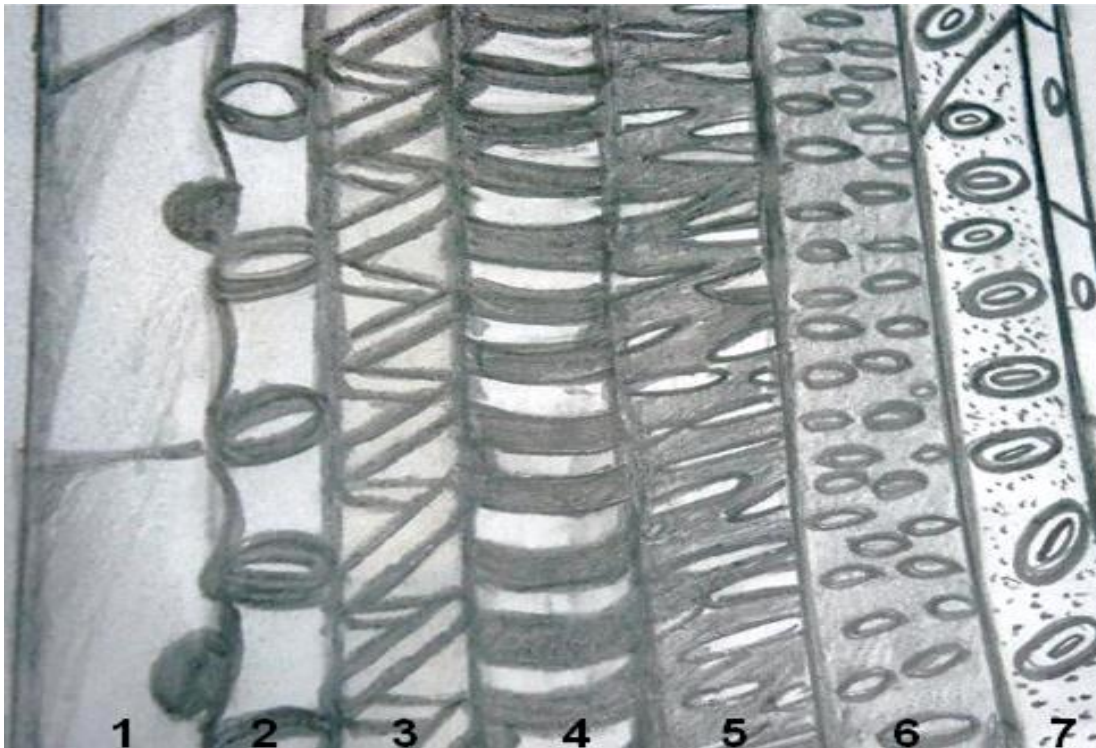
engrosamiento no ocurría por un cambium vascular sino por un meristemo de engrosamiento primario en base a dos principios: 1).- división celular e incremento de células verticales en el tallo (actualmente llamada división periclinal que contribuye al aumento de volumen) y 2).- la reorientación de las células establecidas horizontalmente. En 1980 Stevenson describió un tipo de crecimiento radial en las monocotiledóneas, producto de años de investigación especialmente en plantas arborescentes, mencionando el incremento en la circunferencia del tallo como resultado de células originadas bajo tres conceptos: 1) meristemo lateral próximo al ápice del tallo, 2) un meristemo lateral en una región distal al tallo y 3) a partir de una división celular difusa o aleatoria en regiones maduras del tallo. Stevenson (1980) trabajó con *B. recurvata* y clasificó su crecimiento con base a meristemos primarios y meristemos secundarios que comenzaban de un desarrollo continuo y conforme avanzaba su edad los clasifica como longitudinalmente discontinuos, de acuerdo al segundo concepto descrito anteriormente. En 1983 Diggle y DeMason publicaron una lista de familias con base a Tomlinson y Zimmermann (1969) caracterizadas por tener crecimiento primario y secundario incluyendo todos los géneros de Agavaceae (*Agave*, *Furcraea*, *Yucca*, *Dasyilirion*, *Cordyline*, *Dracaena*) donde también se encontraba *Beaucarnea*. Aunque este género ha estado en distintas familias en los últimos años, casi siempre se le ha considerado de crecimiento primario y secundario aunque algunas de sus especies no se han estudiado a detalle. Bowes (2000) describe tres posibles situaciones para explicar el crecimiento de tallo en algunas monocotiledóneas alternas a la sola presencia de un meristemo secundario: 1) aumento de grosor debido a la actividad del meristemo primario, en el que las células se alinean de manera transversal u oblicua y experimentan divisiones periclinales (crecimientos paralelos al tallo que contribuyen al aumento de grosor) forma haces vasculares colaterales, 2) el meristemo secundario, a veces en conjunto con el meristemo primario, forma haces vasculares concéntricos anfibasales de manera centripeta, 3) aumento de grosor por la constante división difusa del parénquima y no por un meristemo secundario. Las interpretaciones respecto al crecimiento de tallo por el meristemo primario y/o secundario varían de un autor a otro. Cattai y Menezes (2010) opinan que las monocotiledóneas pueden tener

crecimiento en tallo únicamente primario o un crecimiento primario vinculado con el secundario, sin embargo, este es un dilema que aún no se resuelve por completo.

## **II.1.- Tejidos de desarrollo vegetal: meristemos y tejidos vasculares**

El término meristemo viene de la palabra griega *meristo* que significa divisible, Los meristemos son tejidos embrionarios clasificados según su lugar y momento de aparición en el desarrollo de las plantas (Jain, 1999). Los meristemos apicales son responsables de la longitud de las plantas o crecimiento primario mientras que los meristemos laterales se encargan del crecimiento secundario (engrosamiento) y de xilema, floema y parénquima secundario. El meristemo apical es un conjunto de células responsables del crecimiento lineal del ápice del tallo, envuelto y rodeado por los primordios foliares y en la parte basal de la raíz protegido por la caliptra (DeMason, 1983). El meristemo de engrosamiento primario se encuentra en casi todas las monocotiledóneas como responsable del crecimiento primario (Rudall, 1991) de manera radial o difusa que se va volviendo más delgado al observar un corte transversal (DeMason, 1983). El crecimiento primario se origina del promeristemo y es el responsable de formar la epidermis, procambium y meristemo apical y meristemo primario. Por mitosis se originan células que se diferencian en el xilema primario y floema primario (Jain, 1999). Aunque las monocotiledóneas carecen de un cambium vascular, este crecimiento ocurre por la presencia de meristemos laterales y se limita a pocos géneros de *Liliaforae* (Rudall, 1991). El meristemo de engrosamiento primario incrementa el diámetro por división periclinal (Jain, 1999). En los últimos años, el interés por estos meristemos ha aumentado principalmente en *Liliaforae* (por ejemplo por, DeMason, 1979; Stevenson, 1980; Diggle y DeMason, 1983; Rudall, 1991). Los meristemos forman dos tejidos de conducción, xilema y floema. El xilema es responsable de la conducción del agua y solutos inorgánicos (Jain, 1999) se compone de traqueidas, elementos de vaso, fibras y parénquima. Las fibras no conducen agua. Los vasos son unidades de conducción en xilema, más cortos y anchos que las traqueidas, forman xilema primario en raíces y tallos. El primero en formarse es el protoxilema, la lignina se deposita en las paredes de celulosa de los vasos formando engrosamientos espirales o anillados, lo que les permite adaptarse al crecimiento. A

medida que los tejidos vasculares maduran se forma el metaxilema con engrosamientos escalariformes, reticulados y punteados (Jain, 1999). El floema se encarga de transportar sabia elaborada, se compone de vasos liberianos, células acompañantes, parénquima del floema y fibras (Bowes, 2000). El protoxilema, aparece cuando los órganos aún se alargan, los tubos cribosos son activos durante un corto tiempo y luego son destruidos y el parénquima se transforma en fibras. Mientras el metafloema posee tubos cribosos diferenciados, de mayor diámetro y a veces en las monocotiledóneas conduce durante muchos años (Jain, 1999).



**Figura 1.** Esquema de los diferentes tipos de vasos del xilema primario. 2-4. Protoxilema. 5-7. Metaxilema. 1. Células del parénquima. 2. Vaso anillado. 3-4. Vasos helicoidales o espiralados. 5. Vaso escalariforme. 6. Vaso reticulado. 7. Vaso punteado.

## **II.2.- El género *Beaucarnea*.**

Pertenece a la familia Asparagaceae subfamilia Nolinoidea de acuerdo con Hernández-Sandoval (2012) y Stevens (2012). *Beaucarnea* se compone de plantas arborescentes de base globosa, con hojas formando rosetas en la parte superior, sus especies son dioicas y sus semillas con frutos alados (Rojas, 2008; Hernández-Sandoval, 2001) y es conocido como “pata de elefante” por la forma globosa de sus tallos. Algunas especies tienen uso ornamental (Castillo, 2011) otras son comestibles por sus flores y en ocasiones las plantas adultas sirven para elaborar canastos y adornos (Hernández-Sandoval et al., 2012). Diez de once especies se encuentran en México y ocho de ellas se clasifican como endémicas (Castillo, 2011; Hernández-Sandoval et al., 2012) y se encuentran incluidas en la NOM-059-SEMARNAT-2010 en calidad de amenazadas y en peligro de extinción dada la sobreexplotación de plántulas y semillas (Anónimo, 2010; Castillo, 2011). En los últimos años se han hecho grandes esfuerzos por propagar las especies de este género utilizando la tecnología *in vitro* para mejorar su producción mediante explantes. Las dos especies aquí estudiadas (*Beaucarnea gracilis* Lem. y *Beaucarnea pliabilis* (Baker) Rose) son consideradas de las más explotadas con gran valor comercial (Castañeda y Santacruz, 2008) y seriamente amenazadas (Gómez, 2006). Aunque pocos estudios han abordado estas especies para describir el desarrollo de su morfología desde un punto de vista anatómico.

## **II.3.- Descripción de las especies de estudio**

### **II.3.1. *Beaucarnea pliabilis* (Baker) Rose.**

Esta especie también llamada “despeinada” o “siipil” en Maya es endémica de la península de Yucatán (Orellana et al., 1988). Mide hasta 18 m de alto (Figura 2A) con un color grisáceo a marrón, su base es ancha, rugosa y poco cónica con prolongaciones sobre el suelo en forma de garra (Hernández-Sandoval et al., 2012). Lo que la distingue de la mayoría de las especies de su género.



### II.3.2. *Beaucarnea gracilis* Lemaire.

Conocida como “Sotolín” o palma barrigona es un árbol endémico del Valle de Zapotitlán, Puebla (Figura 2B) llega a medir hasta siete metros de altura (Cardel et al., 1997) su base es ancha, cónica y rugosa, es una especie dioica al igual que otras del género (Hernández-Sandoval et al., 2012). Sus poblaciones juveniles se encuentran sobrexplotadas y amenazadas por pastoreo y destrucción del hábitat. El 30% de sus semillas silvestres se encuentran expuestas a parásitos y roedores, el resto que germina es comido por cabras y los que llegan a adultos son usados para elaborar canastos, sombreros y adornos artesanales (Cardel et al., 1997).



Figura 2A. El tallo de *B. pliabilis* presenta mayor longitud que la base (cortesía de Luis Hernández-Sandoval). 2B. *B. gracilis* adulto con su característica base prominente y ensanchada.

## II.4.- Cultivo y germinación de *Beaucarnea*

Gómez (2006) asegura que al sembrar semillas de *Beaucarnea* en tierra al aire libre tardan entre cinco y seis semanas en germinar regando periódicamente con fungicida. Existen algunas enfermedades a las que *Beaucarnea* resulta sensible como: *Aspergillus* sp. que causa pudrición del tallo, *Fusarium* sp. *Pestalotia* sp. y *Rizoctonia* sp. Cardel et al., (1997) afirman que *B. gracilis* tiene un porcentaje de germinación del 97% al 100% en cajas Petri con papel filtro y un poco de humedad aproximadamente en diez días (Hernández-Sandoval et al., 2012).

## III JUSTIFICACIÓN

Actualmente no se ha definido el mecanismo por el cual los meristemas aumentan el grosor de los tallos en algunas monocotiledóneas. Sin embargo, se sabe que los meristemas pueden determinar la estructura a nivel morfológico en las plantas. Algunas especies de *Beaucarnea* como *B. pliabilis* desarrollan un tallo alargado con una base cónica y prolongada (Figura 2) mientras que otras especies como *B. gracilis* (Figura 3) generan un tallo corto con una base ancha y globosa (Hernández-Sandoval et al., 2012). El tener dos morfologías contrastantes en el mismo género permite inferir sobre las posibilidades de variación en los arreglos vasculares y las diferencias de crecimiento por los meristemas apicales y laterales. Los datos obtenidos explican la activación del meristemo apical, el crecimiento primario, la generación de hojas y el meristemo secundario. Además, se contribuye a la comprensión del crecimiento en *Beaucarnea*.

## IV HIPÓTESIS

De acuerdo a la morfología prolongada de *B. pliabilis*, esta especie debe contar con un crecimiento primario, mientras el tronco de *B. gracilis* debe ensancharse por actividad del meristemo secundario. Por lo tanto, el crecimiento primario y secundario mantendrán una relación con los meristemas, la generación de hojas y el engrosamiento y prolongación del tallo.

## V OBJETIVOS

### V.1.- Objetivo general

Caracterizar el crecimiento de *Beaucarnea pliabilis* y *B. gracilis* analizando el desarrollo de los tejidos vasculares y el tiempo de activación de los meristemas.

### V.2.- Objetivos particulares

1. Producir plántulas de *Beaucarnea pliabilis* y *B. gracilis* bajo condiciones controladas.
2. Determinar si la morfología está relacionada con diferentes tiempos de activación de los meristemas entre las especies.
3. Identificar si los tejidos desarrollados en cada etapa son primarios o secundarios.
4. Buscar una posible correlación entre la cantidad de haces vasculares con el número de hojas.

## VI MATERIAL Y MÉTODOS

### VI.1.- Siembra y germinación

Las plantas se produjeron a partir de semillas de *Beaucarnea pliabilis* y *B. gracilis* obtenidas del laboratorio de botánica de la Facultad de Ciencias Naturales a partir de colectas del 2003 en Salinas, Puebla para *B. gracilis* y en Mérida Yucatán para *B. pliabilis*. Se consideró un tamaño mínimo de muestra de tres individuos (bajo el supuesto que no existía variabilidad en los caracteres de la misma especie). Para la desinfección de semillas se modificó el método de lavado que sugieren García y Malda (2010) para erradicar eficazmente microorganismos de las costillas en las semillas. Se usó jabón líquido al 1% por cada 100 ml de agua y se colocó la solución al vortex a 2500 rpm por nueve minutos, enjuagando cada tres minutos con agua destilada. Posteriormente reposaron cuatro minutos en peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) al 3% con tres repeticiones y se enjuagó con agua estéril cada vez, después se dejaron dos minutos en nitrato de plata ( $AgNO_3$ ) al 1%, un minuto en alcohol al 70% y finalmente se enjuagaron con agua destilada estéril. Las semillas se sembraron en cajas estériles (Figura 3) con medio MS (Murashige y Skooge, 1962) siguiendo las indicaciones de pH y asepsia de Gómez (2006) y modificando la concentración original del medio agar como indica la Tabla 1 de acuerdo a García y Malda (2010).

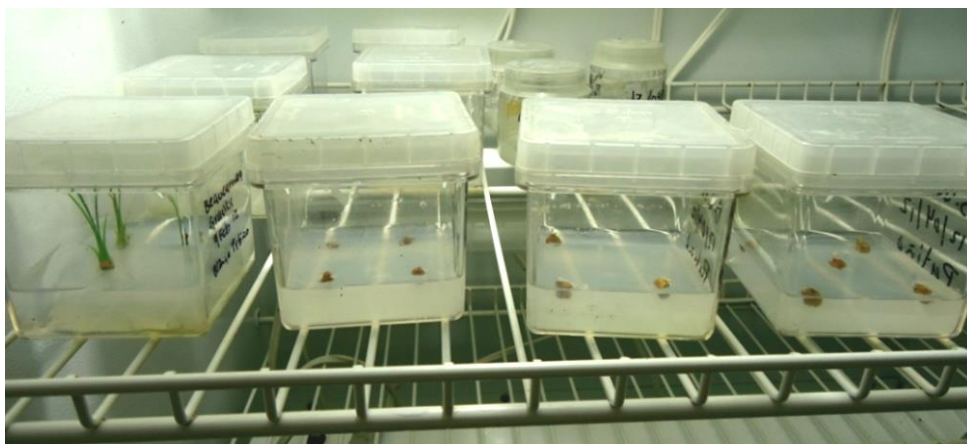


Figura 3. Las semillas se sembraron en cajas plásticas con medio MS bajo condiciones estériles a una temperatura de 27° C.

Tabla 1. Preparación de medio basal MS a dos concentraciones. A una concentración del 50% con respecto a la fórmula original de Murashige y Skooge (1962).y a una concentración del 100% (fórmula original)

Sales	Preparación al 50% de acuerdo a García y Malda (2010)	Preparación al 100% de acuerdo a Murashige y Skoog (1962)
1. Nitrato de amonio ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ )	825 mg	1650 mg
2. Nitrato de potasio ( $\text{KNO}_3$ )	950 mg	1900 mg
3. Cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	220 mg	440 mg
4. Fosfato de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	85 mg	170 mg
5. Sulfato de Magnesio pentahidratado ( $\text{MgSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )	185 mg	370 mg

Se contabilizó el número de brotes cada semana y se determinó la edad a partir de la fecha de germinación. Se colectaron doce plántulas cada dos meses tal como explica la Tabla 2 y se midió la longitud de las hojas y la circunferencia de la base del tallo individualmente.

Tabla 2. Colecta de plántulas de acuerdo a los periodos de observación y el tipo de corte.

Tipo de corte	<i>Beaucarnea pliabilis</i>		<i>Beaucarnea gracilis</i>		Total
	Longitudinal	Transversal	Longitudinal	Transversal	
2 meses	3 plántulas	3 plántulas	3 plántulas	3 plántulas	12
4 meses	3 plántulas	3 plántulas	3 plántulas	3 plántulas	12
6 meses	3 plántulas	3 plántulas	3 plántulas	3 plántulas	12
Total	9	9	9	9	36

## VI.2.- Anatomía comparada

Las hojas y raíces fueron retiradas fijando solamente los tallos en Navashin (Figura 4) según la metodología Kraus y Arduin (1997). Los tejidos fueron deshidratados por una serie ascendente de alcoholes terbutílicos (TBA, ver Tabla 3) basada en la metodología de Johansen 1940. Sin embargo, se observó que los tejidos se deshidrataban abruptamente, perdiendo su forma y endureciéndose, dificultando los cortes histológicos, por lo que se añadieron las concentraciones de 10 %, 25 % y 35% y se aumentó el tiempo de exposición de dos horas a cuatro días y se terminó con tres cambios de TBA como indican Martínez y Hernández (1997). Con las modificaciones anteriores se logró mantener la forma y tamaño de las células. Posteriormente las plántulas se embebieron en parafina de manera longitudinal y transversal según la metodología de Martínez y Hernández (1997) y se realizaron cortes histológicos a 18  $\mu\text{m}$  (ver Tabla 2) por micrótopo de rotación marca Leica RM 2125. Los cortes se tiñeron con verde rápido y safranina y se montaron con Permount (Martínez y Hernández 1997). Finalmente las muestras se observaron con un microscopio de luz Zeiss standar 25 en aumento 40X, 100X y 400X. Las fotografías fueron tomadas con una cámara Sony DSC-S75

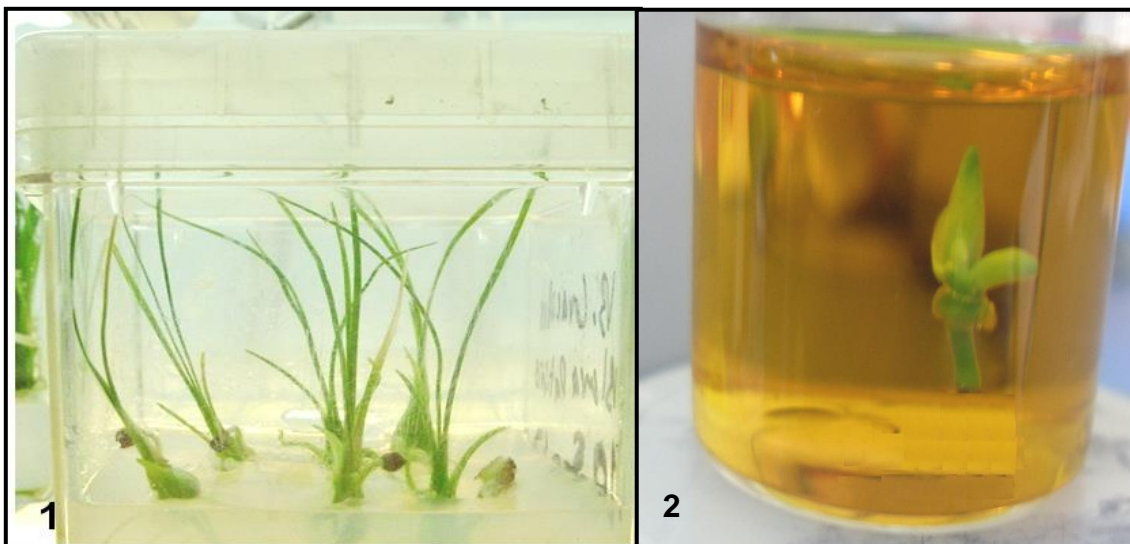


Figura 4. 1. Seis plántulas de cuatro meses de edad de *B. gracilis*. 2. Tallos de *B. pliabilis* fijados en Navashin.

Tabla 3. Concentración de alcohol terbutílico o TBA . empleado en la deshidratación de los tejidos.

Tiempo	TBA	DILUCIONES DE ALCOHOL TERBUTÍLICO			
	Concentración OH	Agua destilada	Alcohol etílico al 95%	TBA	Alcohol etílico al 100%
4 días	10%	90	10	0	0
4 días	25%	75	25	0	0
4 días	35%	65	30	5	0
4 días	50%	50	40	10	0
4 días	70%	30	50	20	0
4 días	85%	15	50	35	0
4 días	95%	0	45	55	0
4 días	100%	0	0	75	25

## VII RESULTADOS

### VII.1. Siembra y germinación

El 75% de las semillas cultivadas en medio MS según Murashige y Skooge (1962) preparado con fórmula original presentó mayor incidencia de contaminación por hongos: *Aspergillus* sp. y *Fusarium* sp. En contraste con un agar a mitad de concentración donde la presencia de patógenos disminuyó considerablemente y se obtuvo un mayor índice de germinación, La germinación en *Beaucarnea gracilis* comenzó a los ocho días de la siembra , alcanzando el 50% de germinación a los 15 días y el 100% a los 30 días. En *Beaucarnea pliabilis*, la germinación ocurrió a partir de los 20 días alcanzando el 50% a los 30 días y el 100% a los 40 días (Figura 5).

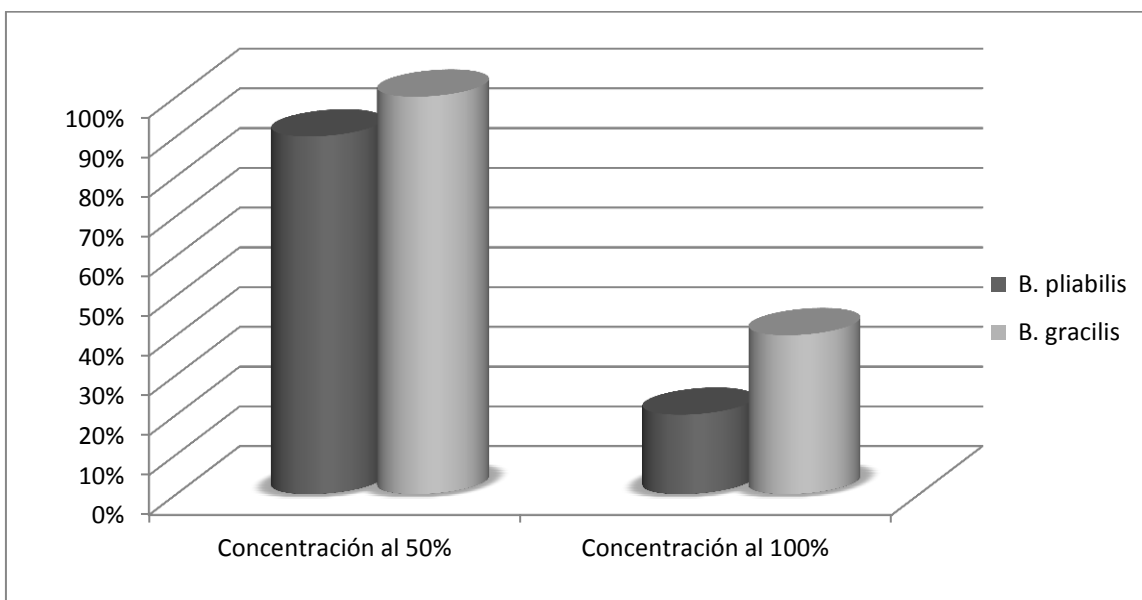


Figura 5. Efecto de la concentración de medio MS sobre el porcentaje de germinación de semillas (*B. pliabilis* y *B. gracilis*). Las columnas son resultado de dos experimentos individuales. La baja tasa de germinación se muestra en las columnas de la derecha. Y el mayor éxito de germinación se muestra en las columnas de la izquierda.



## VII.2. Anatomía comparada

### VII.2.1.- Dos meses de edad

En esta etapa *Beaucarnea gracilis* desarrolló de tres a cinco hojas estrechas, rígidas y delgadas con una longitud de 8 cm a 12 cm, sobre una base del tallo muy redondeada de una circunferencia de 2 cm, sus raíces fueron pequeñas y escasas (Figura 6). En corte transversal del tallo se observaron de siete a nueve haces vasculares colaterales primarios en una matriz de parénquima que se desarrolló de forma radial partiendo del centro (Figura 7). *B. pliabilis* desarrolló de siete a nueve hojas de consistencia ancha y áspera con una longitud de 11 a 13 cm, el tallo no generó un engrosamiento basal y sus raíces se mostraron fasciculadas. En corte transversal se contaron de cinco a siete haces vasculares concéntricos envueltos en un parénquima primario donde el crecimiento se observó de forma radial como si se tratara de un espesamiento en espiral.



Figura 6. 1-4. Plántulas de dos meses de edad. 1 y 3. *Beaucarnea gracilis* presenta un engrosamiento basal en el tallo con pocas hojas delgadas. 2 y 4. *Beaucarnea pliabilis* genera hojas anchas y gruesas en un tallo regular.

En corte longitudinal la activación del meristemo apical coincidió con la formación de los primordios foliares y el desarrollo del meristemo primario, *B. gracilis* tuvo una pequeña porción delgada del tallo producto del meristemo apical del que brotaron todas las hojas. *Beaucarnea pliabilis* produjo numerosos primordios foliares en distintos puntos del ápice. (Figura 8).

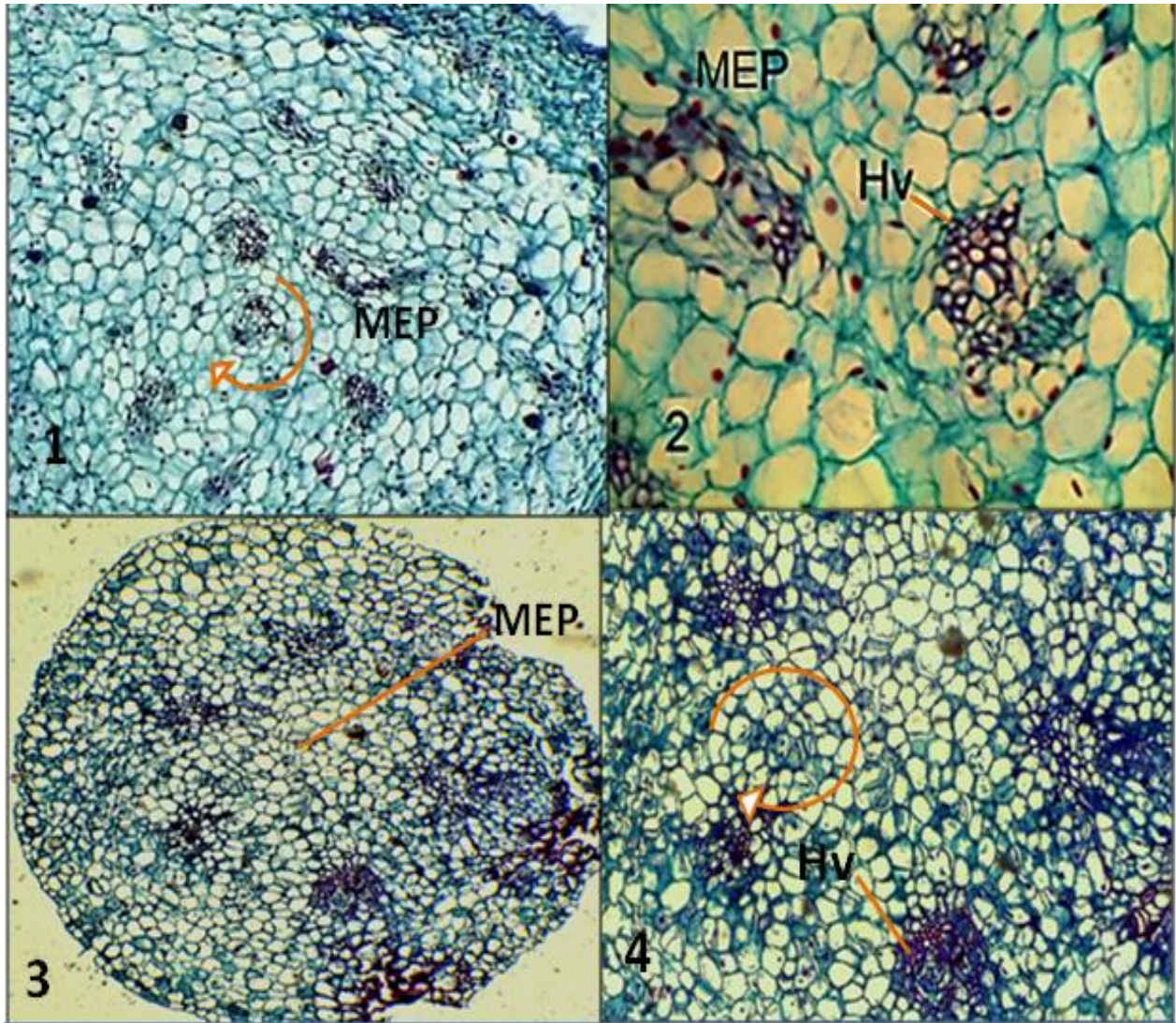


Figura 7. Corte transversal de tallo. 1-2. *B. gracilis* y 3-4. *B. pliabilis*. La división celular es radial. 1. Tallo de *Beaucarnea gracilis* con haces vasculares colaterales en parénquima. Aumento 400X. 2. Haces vasculares colaterales. Aumento 400X. 3. Tallo de *Beaucarnea pliabilis* con crecimiento primario. Aumento 40X. 4. Haces vasculares concéntricos. Aumento 400X. MEP= meristemo de engrosamiento primario. HV= haces vasculares.



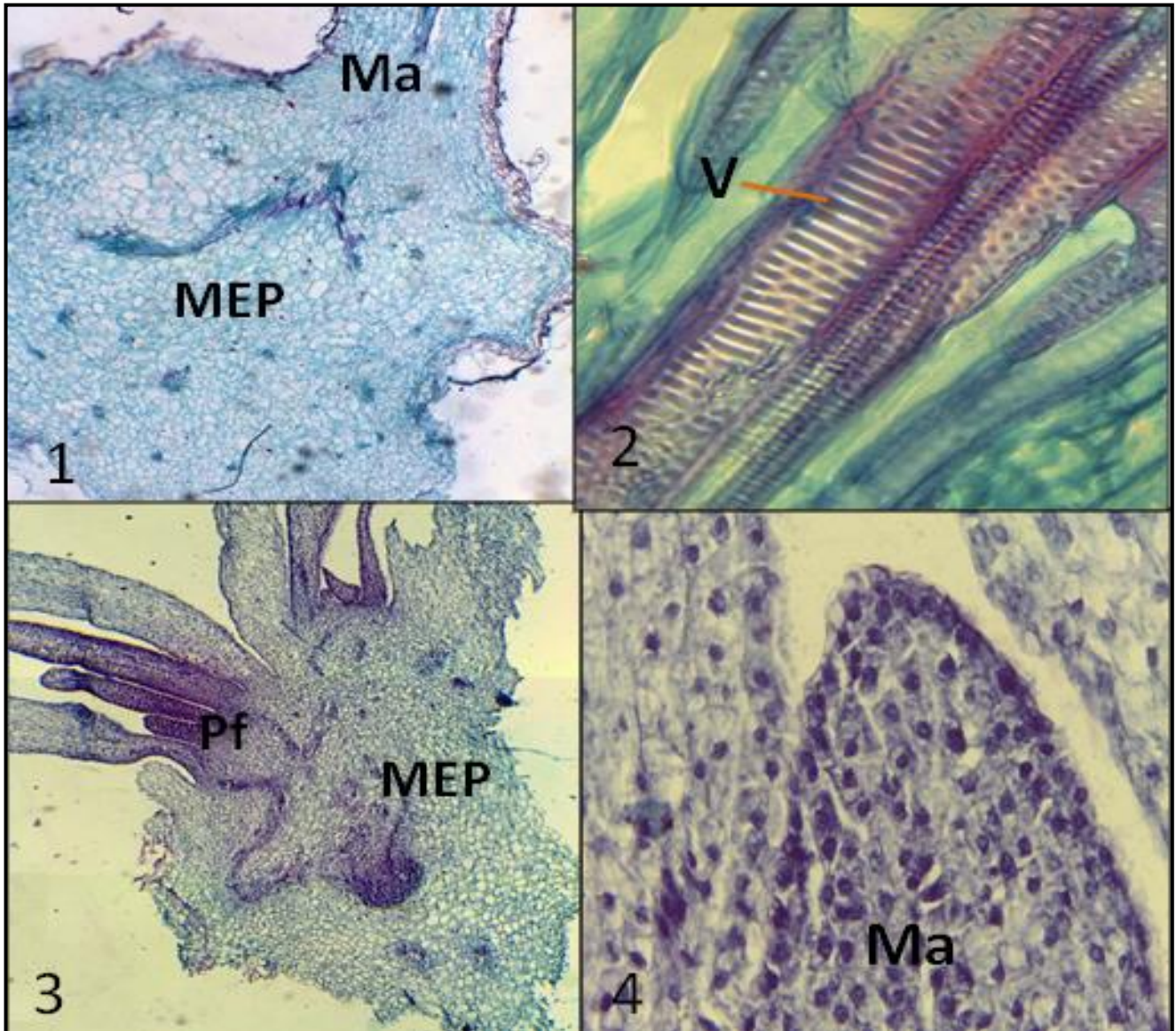


Figura 8. 1-4. Corte longitudinal en tallo. 1-2. *B. gracilis*. 3-4. *B. pliabilis*. 1. Aumento de grosor por actividad del meristemo primario. 2. Vasos con engrosamientos escalariformes del metaxilema. 3. Formación de primordios foliares y engrosamiento por meristemo primario en *B. pliabilis*. Aumento 40X. 4. Células del meristemo apical. Aumento 400X. Ma= meristema apical. MEP= meristema de engrosamiento primario. V= vaso con engrosamientos. Pf= primordios foliares.

### VII.2.2.-Cuatro meses de edad

*Beaucarnea gracilis* aumentó dos centímetros la longitud de sus hojas, las más largas midieron 14 cm y las más cortas 6 cm. Cambió la morfología de su tallo generando una base más redondeada (Figura 9) con una circunferencia de 2.5 cm. Por su parte, *B. pliabilis* tuvo un aumento de cinco centímetros en la longitud de sus hojas, las más prolongadas de 16 cm y las más cortas de 14 cm con una consistencia más suave y oscura. El tallo se mantuvo estrecho con un diámetro de 1.3 cm. En corte transversal del tallo, los haces vasculares de *B. gracilis* formaron un anillo de vasos con engrosamiento espiralado y escalariforme (Figura 10). La base generó un aumento de volumen por el meristemo primario (Figura 11). *B. pliabilis* desarrolló un crecimiento radial con división anticlinal y una gran cantidad de haces vasculares secundarios concéntricos anfibasales partiendo del centro del tallo hacia la periferia (Figura 12). Es evidente que los tejidos del meristemo primario son longitudinalmente continuos con los del meristemo secundario (Figura 13).



Figura 9. 1-2. Plantulas de cuatro meses de edad. 1. *B. gracilis* con hojas escasas y estrechas. 2. *B. pliabilis* con hojas lisas y alargadas.



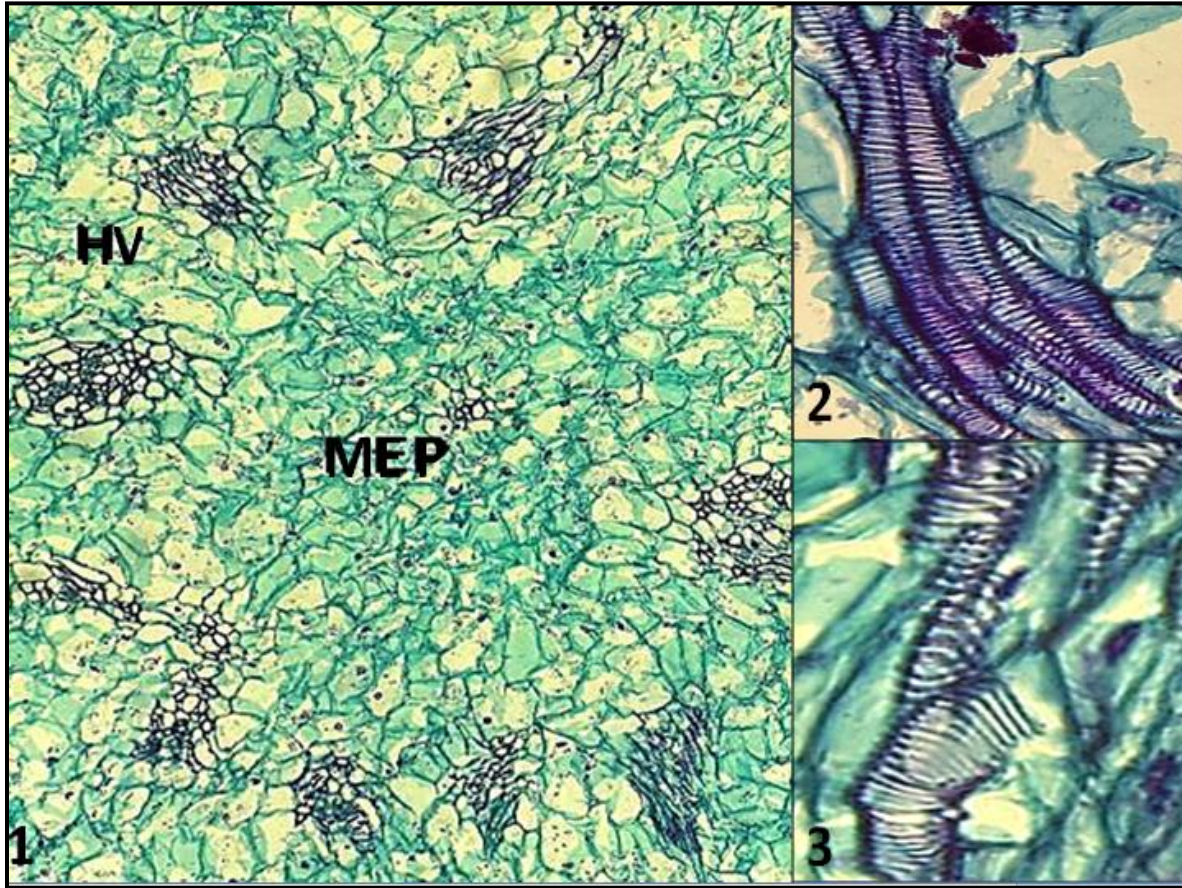


Figura 10. Corte transversal de tallo de *Beaucarnea gracilis*. 1. Aumento de grosor por MEP. .Aumento 100X. 2-3. vasos con engrosamientos helicoidales del protoxilema. Aumento 400X. MEP= meristemo de engrosamiento primario. Hv= haces vasculares.

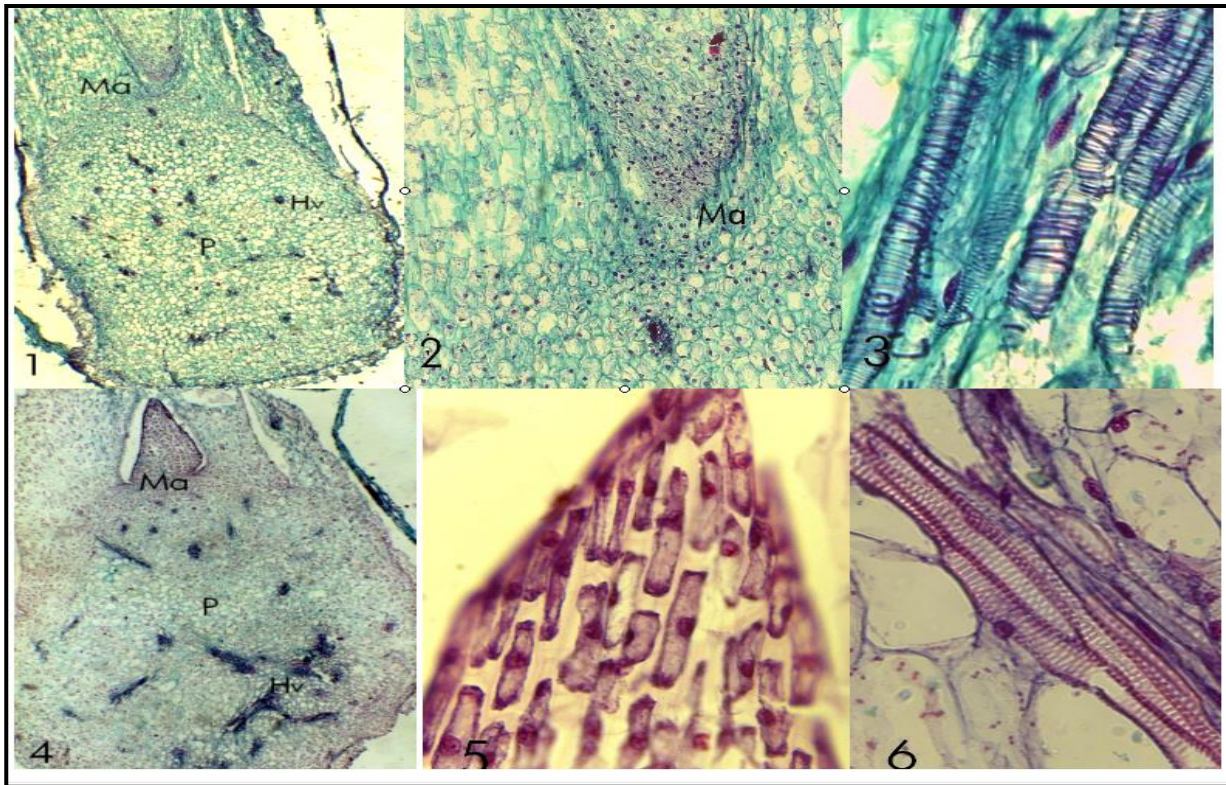


Figura 11. Corte longitudinal del tallo de *B. gracilis*. 1. Ensanchamiento por actividad del meristemo primario. Aumento=100X. 2. Sección del meristemo apical. 3. Vasos con engrosamientos helicoidales del protoxilema. Aumento=400X. 4. Crecimiento primario refiriendo zona del meristemo apical y meristemo de engrosamiento primario. 5. Células no diferenciadas del ápice del tallo. Aumento=400X. 6. vasos con engrosamientos escalariformes. Aumento =400X. MEP= meristemo de engrosamiento primario. Ma= meristemo apical.



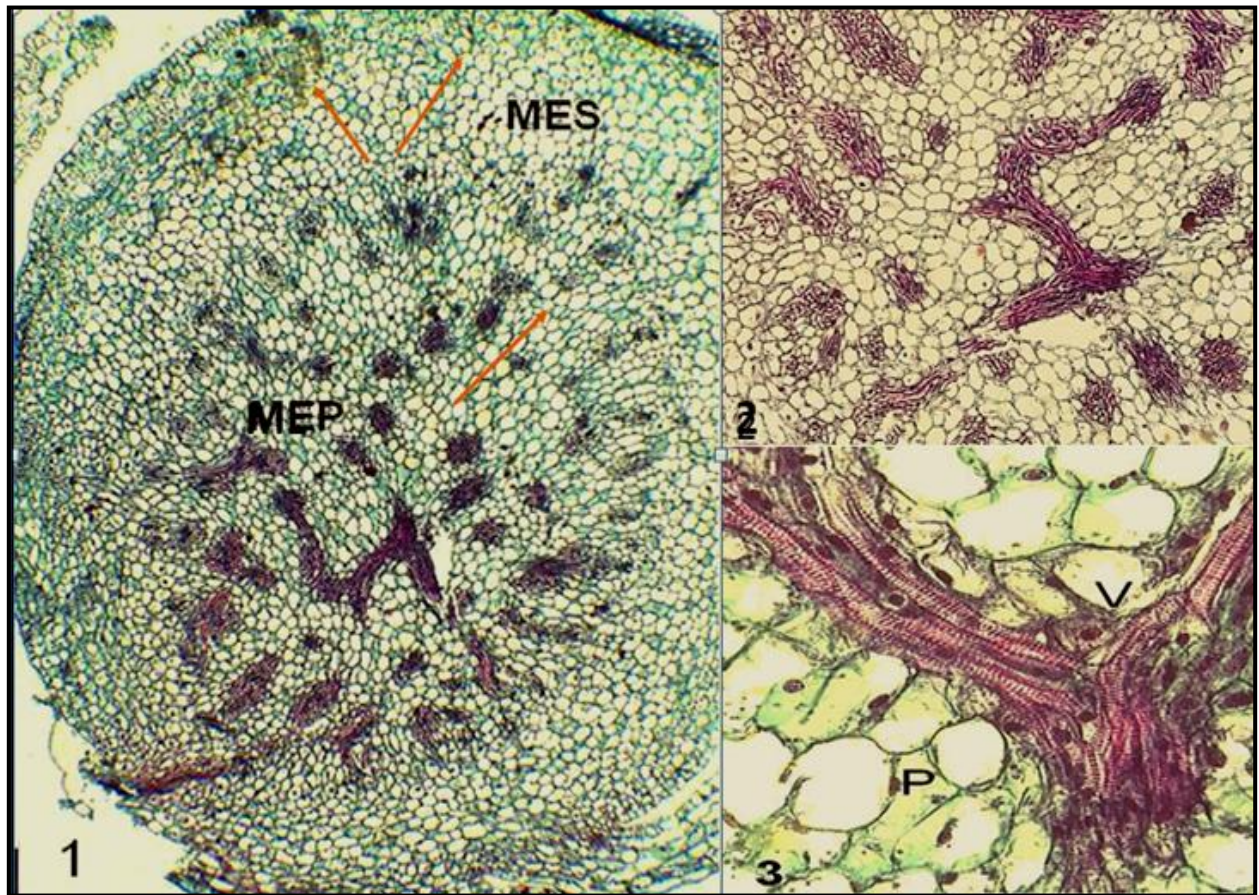


Figura 12. 1-3. Corte transversal de tallo de *Beaucarnea pliabilis*. 1.-Celulas con divisón anticlinal. Aumento= 100X . 2-3.elementos de vaso de xilema secundario. Aumento= 400X. MPE= meristemo de engrosamiento primario. P= parenquima. V= vasos con engrosamientos.



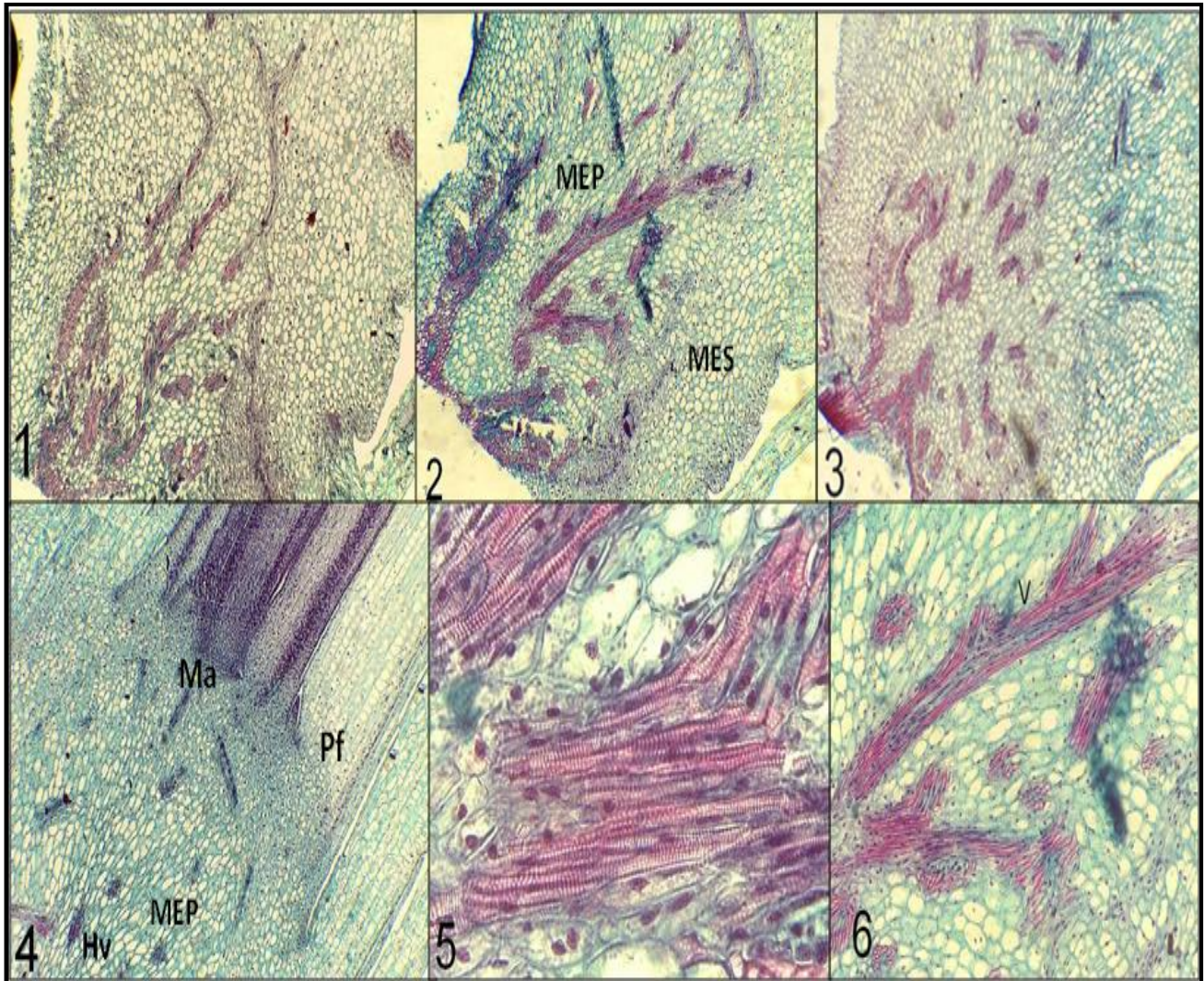


Figura 13. Corte longitudinal de tallo de *B. pliabilis*. 1-3. Engrosamiento primario y secundario con haces vasculares secundarios Aumento 100X. 4. Diferenciación del meristemo de engrosamiento primario.. Aumento 100X. 5-6. Vasos de xilema. Ma= meristemo apical, Pf= primordios foliares, Hv= Haces vasculares, MEP= meristemo de engrosamiento primario, MES=meristemo de engrosamiento secundario.



### VII.2.3.- Seis meses de edad

*Beaucarnea gracilis* mantuvo constante el número de hojas (5 hojas) desde los cuatro meses. Las hojas más largas midieron 16 cm y las más cortas 10 cm. La base del tallo finalizó con una circunferencia de 3 cm (Figura 14) En corte transversal los haces vasculares mostraron un crecimiento difuso en el tallo con elementos de vaso de engrosamiento espiralado y escalariforme. La división celular se conformó de manera periclinal. Los haces vasculares con engrosamientos del metaxilema partieron del centro del tallo en un crecimiento difuso (Figura 15). No obstante, *B. pliabilis* mantuvo un constante aumento en el número de hojas hasta esta etapa, las hojas más largas alcanzaron una longitud de 18 cm y las más cortas 16 cm. En corte transversal la cantidad de haces vasculares secundarios fue masiva, cubriendo casi la totalidad de la superficie del tallo en un crecimiento anticlinal. Los límites entre el meristemo primario y el desarrollo del meristemo secundario son perfectamente notorios (Figura 16).



Figura 14. 1.-Comparación morfológica de 1.-*Beaucarnea gracilis* y 2.-*B. pliabilis* a seis meses de edad.

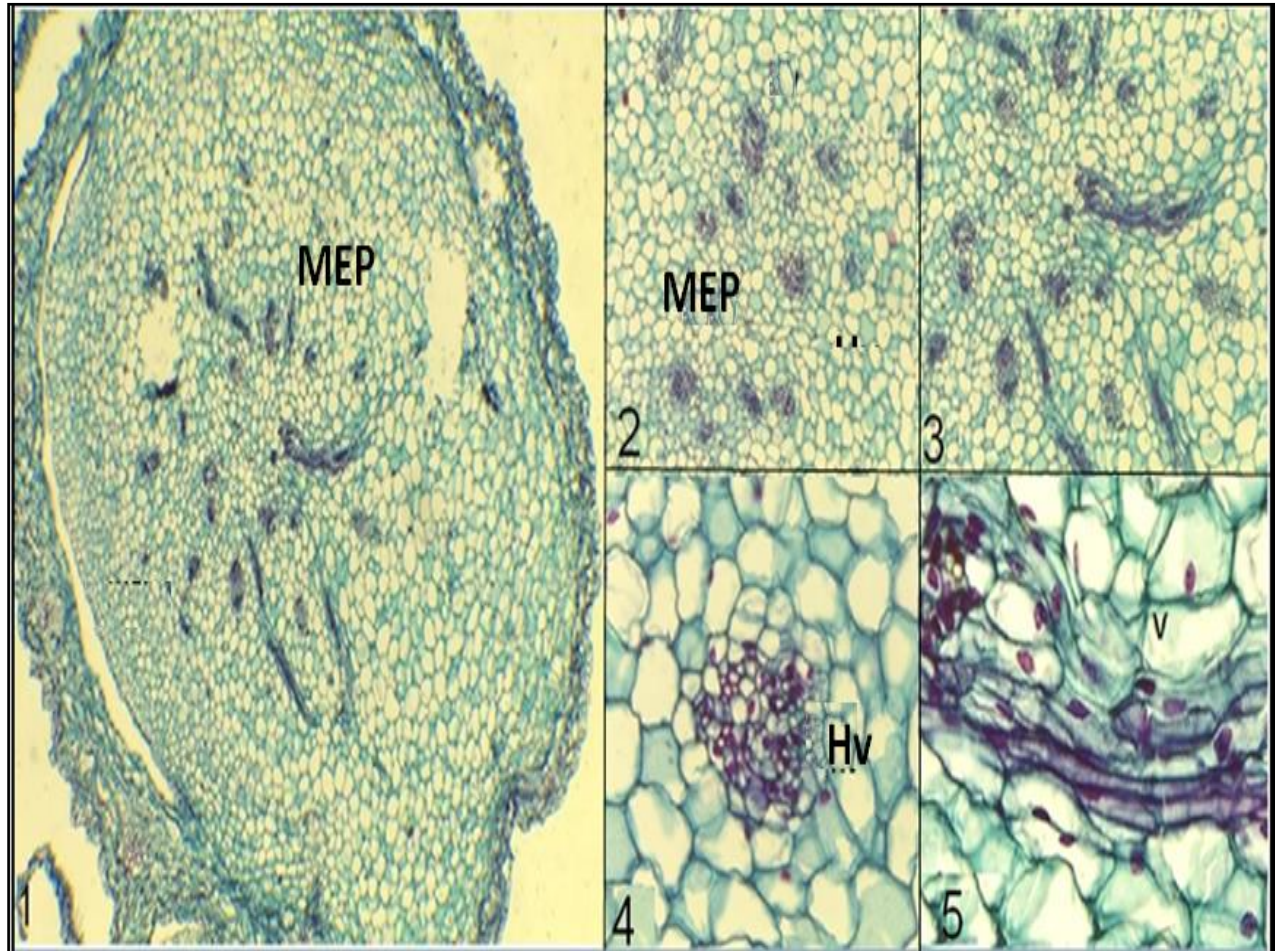


Figura 15. 1-5. Corte transversal de tallo en *B. gracilis*. Aumento 100X. 2-3. Haces vasculares en meristemo de engrosamiento primario. Aumento 100X. 5. Vasos del xilema. Aumento 400X. MEP= meristemo de engrosamiento primario. HV= haces vasculares. V= vasos con engrosamientos.



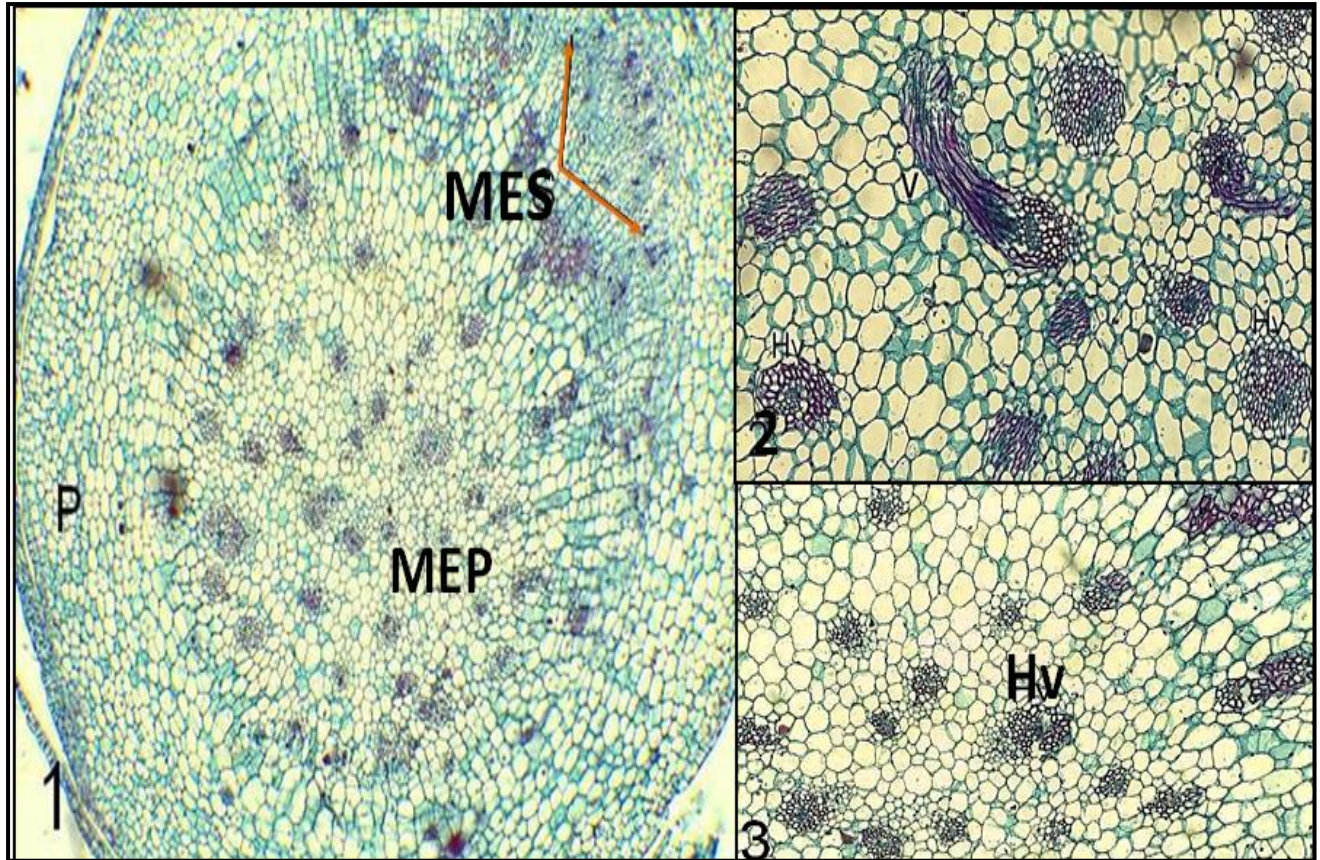


Figura 16. Corte transversal de tallo de *B. pliabilis* con seis meses de edad. 1. Crecimiento anticlinal, las divisiones celulares se distribuyen radialmente en el tallo. Se diferencia la zona de engrosamiento del meristemo primario (MEP) de la zona del meristemo secundario (MES) Aumento 100X. 2-3. Haces vasculares secundarios. Aumento 400X. Las flechas indican la dirección del crecimiento celular en cada meristemo. MEP= meristemo de engrosamiento primario. MES= meristemo de engrosamiento secundario. Hv= haces vasculares.



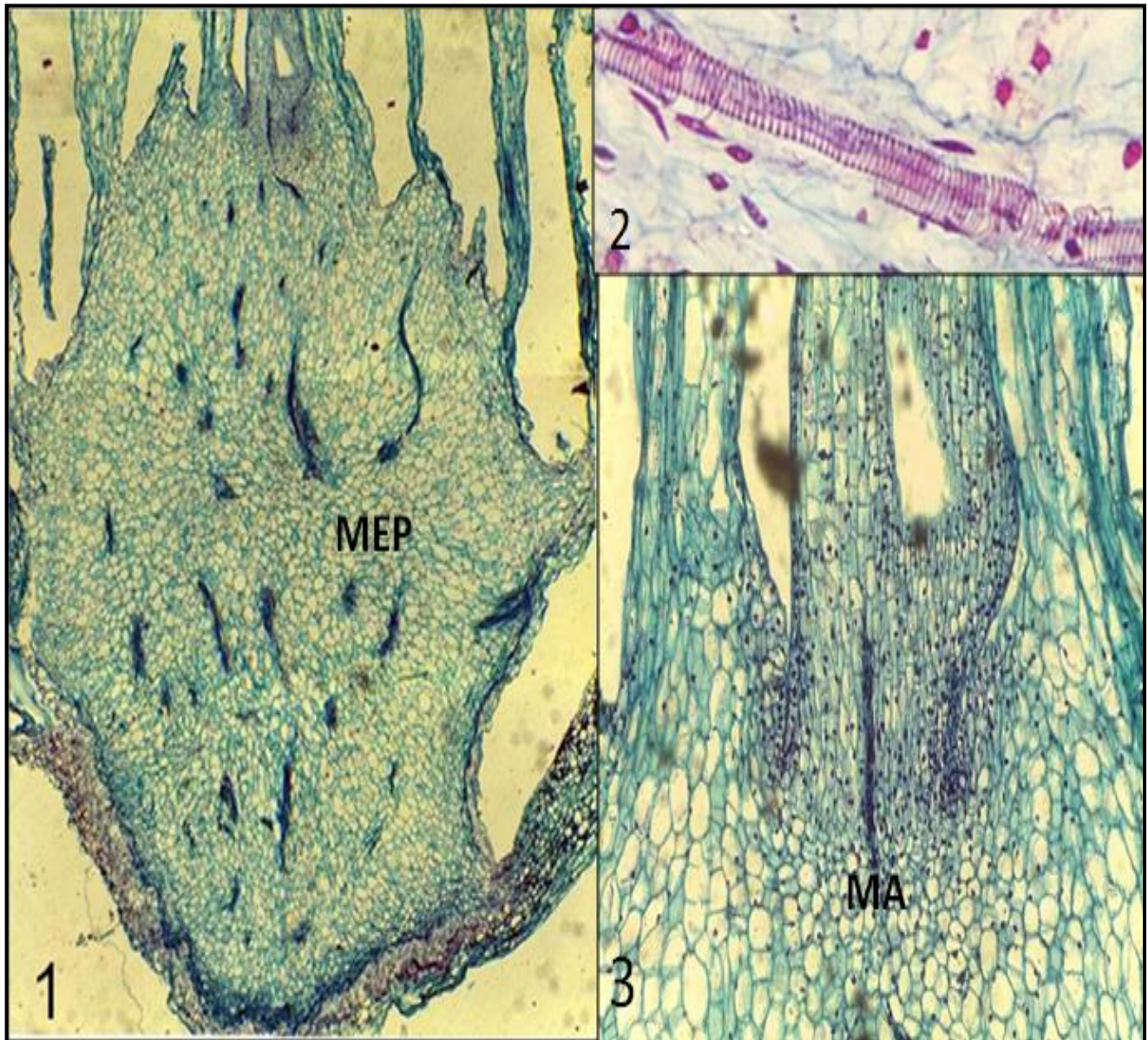


Figura 17. Corte longitudinal en tallo de *Beaucarnea gracilis*.1.-Meristemo de engrosamiento primario. Aumento 40X. 2. Vasos con engrosamientos espiralados del xilema. Aumento 400X. 3. Sección del meristemo apical. Aumento 400X. MEP= meristemo de engrosamiento primario. Ma= meristemo apical.



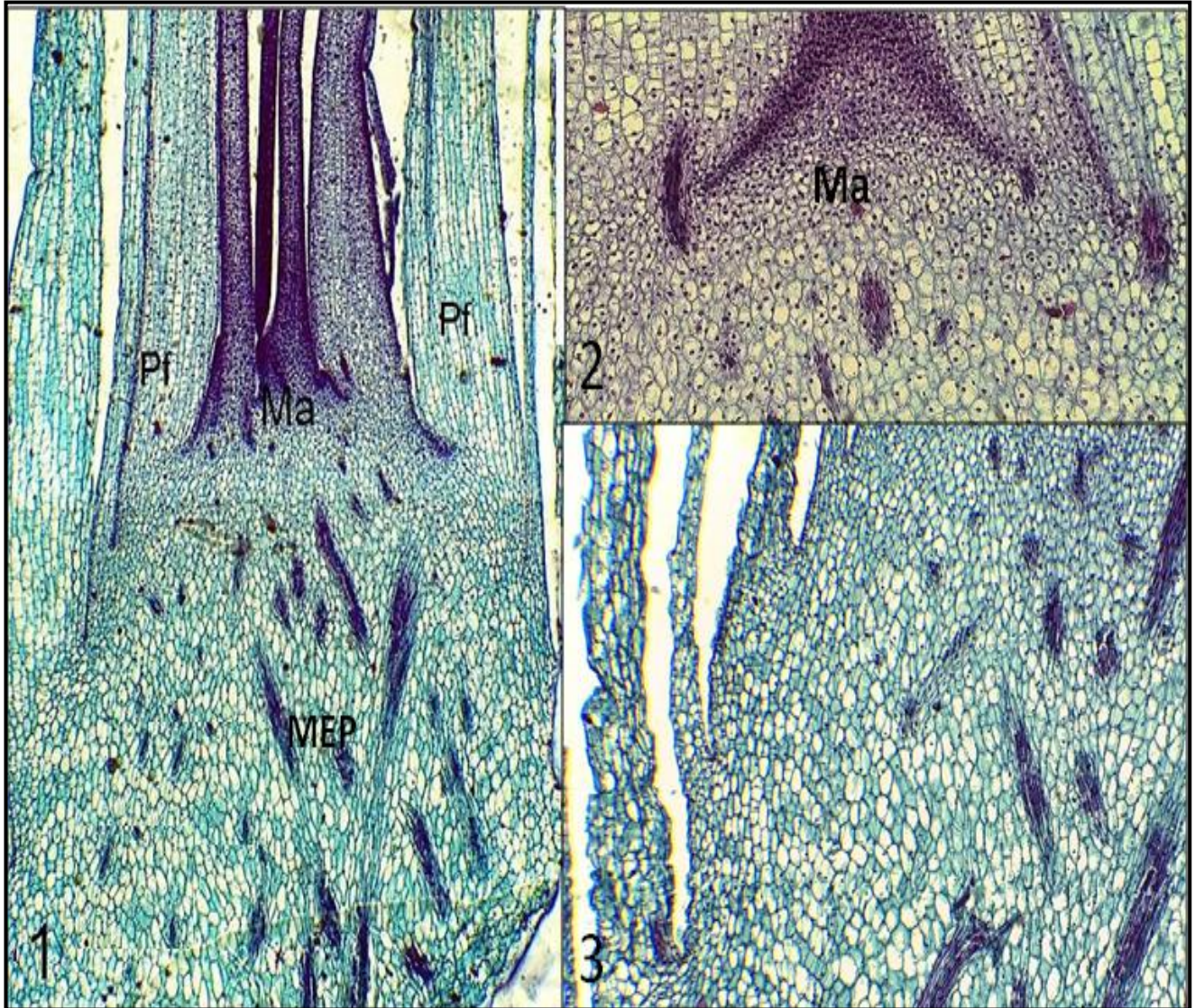


Figura 18. Corte longitudinal de tallo de *B. plabilis*. 1. Crecimiento primario. Aumento 100X. 2. Sección del meristemo apical. 3. Los haces vasculares y el crecimiento secundario. Aumento 400x. MEP= meristemo de engrosamiento primario. Ma= meristemo apical. Pf= primordios foliares.

## VIII DISCUSIÓN

### VIII.1.- Siembra y germinación

Gómez (2006) asegura que las semillas tardan entre cinco y seis semanas en germinar en tierra al aire libre, sin embargo en este trabajo se logró la germinación del 90% de las semillas en un periodo no mayor a 30 días usando un medio basal MS Murashine y Skoog (1962) por ser nutritivo para la germinación de las plántulas y en condiciones controladas de temperatura. Además este medio facilitó la observación del crecimiento de hojas y raíces en condiciones estériles. Sin embargo en repetidas ocasiones se presentaron hongos patógenos como *Aspergillus* sp. y *Fusarium* sp. en plántulas después de la germinación probablemente por la concentración del medio o por la constitución física de las semillas, los lóbulos de las semillas tal vez sirvieron de reservorio para los hongos patógenos debido al tiempo almacenado o simplemente por el método de lavado usado inicialmente. Gómez (2006) asegura que la presencia de estos hongos es común. Dado este resultado se cambió a una preparación de agar a media concentración como indican García y Malda (2010) generando un mayor éxito de germinación de hasta 100% y una baja presencia de hongos. Para los cortes histológicos, se sugiere emplear la metodología de deshidratación aquí descrita para otras especies de *Beaucarnea* o incluso suculentas.

### VIII.2.- Anatomía comparada

Con base en la información obtenida sobre *Beaucarnea* por Stevenson (1980), Diggle y DeMason (1983) y de acuerdo a Cattai y Menezes (2010) *Beaucarnea* es uno de los géneros que desarrollan tejidos primarios y secundarios. Por lo que se esperaba encontrar meristemas de engrosamiento primario y secundario implicados en el desarrollo de *Beaucarnea gracilis* y *Beaucarnea pliabilis*. Sin embargo los resultados fueron contrarios a lo que se esperaba, *Beaucarnea pliabilis* mostró una clara difusión celular entre el meristemo primario y el meristemo secundario longitudinalmente continuos a partir del cuarto mes, mismos resultados fueron vistos por Stevenson (1980) en *Beaucarnea recurvata* R.. Los haces vasculares se diferenciaron entre

primarios y secundarios concéntricos anfibasales en un parénquima de proliferación tal como Bowes (2000) menciona, este tipo de tejidos vasculares son producto de un meristemo de engrosamiento secundario entrelazado con un meristemo de engrosamiento primario como aquí se vió. Cabe mencionar que la hipótesis esperaba que la ausencia de un ensanchamiento basal en el tallo de *B. pliabilis*, resultara en una anatomía generada únicamente por el meristemo apical sin que se desarrollara un meristemo secundario. Pero al transcurrir los meses el número de hojas aumentó progresivamente en esta especie al igual que sus haces vasculares y los tejidos se fueron desarrollando en una morfología alargada a pesar de contar con ambos meristemas. En cuanto a *Beaucarnea gracilis*, Inicialmente se pensó que la morfología de su tallo se debía a la presencia de meristemas laterales y crecimiento secundario que aumentaba el volumen de los tejidos. Sin embargo, la morfología reveló células en constante división del meristemo primario desde los primeros meses de observación tal como describe DeMason (1979) en sus análisis con *Allium cepa*, él describe un crecimiento radial en ausencia de un cambium vascular y sin la presencia de un meristemo lateral. Las células del tallo se alinearon de manera transversal formando divisiones periclinales que contribuyeron al aumento de volumen y haces vasculares colaterales como refiere Jain (1999) y Bowes (2000) en especies con crecimiento difuso por el meristemo primario. Los resultados mostraron que el tallo globoso que genera esta especie es producto de un crecimiento activo del meristemo primario y no por la actividad de meristemas laterales o de un meristemo primario enlazado con un meristemo secundario como se vió en *B. pliabilis*. Por ahora no se conocen trabajos recientes en otras especies del género con resultados similares.

### **VIII.2.1.- Dos meses de edad**

15 días después de la germinación al comenzar el periodo de observación se desarrollaron diferencias evidentes en la morfología de las especies, *Beaucarnea gracilis* ya formaba un engrosamiento redondeado en la base del tallo del que surgieron pocas hojas delgadas y estrechas. Por el contrario, *B. pliabilis* no contaba con ese engrosamiento sino con un tallo pequeño cubierto con numerosas hojas, anchas y prolongadas. En un corte transversal, en vez de tener meristemas laterales aumentando

el volumen de *B. gracilis*, ambas especies mostraron un desarrollo radial en espiral que envolvían a los haces vasculares por actividad del meristemo primario. Los primordios foliares fueron abundantes en *B. pliabilis* sobre distintos puntos del ápice contrario a *B. gracilis*, donde las hojas se desarrollaron sobre la porción delgada del tallo que existe después de la base. Los vasos con engrosamientos del xilema primario no estuvieron visibles para *B. pliabilis*. No obstante, *B. gracilis* sí mostró engrosamientos escalariformes en cortes longitudinales del tallo.

### **VIII.2.2.- Cuatro meses de edad**

En esta etapa se pudo definir un tipo de crecimiento para cada especie. Pues a pesar de ser una edad temprana, las plántulas mostraron meristemos diferenciados y tejidos vasculares desarrollados. Mientras *Beaucarnea gracilis* formaba una matriz de parénquima con haces vasculares colaterales *B. pliabilis* contaba con haces vasculares concéntricos anfibasales en tejido vascular primario y secundario, aunque un meristemo secundario no necesariamente implica un engrosamiento basal ni viceversa. Para ambas especie el desarrollo ocurre de manera radial. En cuanto a la masa foliar esta aumentaba únicamente en *B. pliabilis* pues *B. gracilis* mantuvo el mismo número de hojas aumentando un poco su longitud.

### **VIII.2.3.- Seis meses de edad**

En la última etapa de observación se deduce fácilmente el cambio morfológico y anatómico que generó cada especie. *B. gracilis* aumentó el número de haces vasculares concentrados en el centro del tallo a dispersos de manera radial al igual que *B. pliabilis*, aunque los haces vasculares de esta especie son concéntricos y no colaterales. *B. pliabilis* siempre mostró hojas prolongadas semejantes a listones anchos y suaves mientras las hojas de *B. gracilis* permanecieron escasas y delgadas. Podemos decir con certeza que *B. pliabilis* concentró su crecimiento en el aumento de hojas y la prolongación de un tallo delgado mediante un crecimiento radial. Por su parte, el desarrollo de *B. gracilis* se dedicó al aumento de volumen en la base del tallo y por esa razón dicha especie no aumentó el número de hojas de una etapa a otra.



## IX CONCLUSIONES

El crecimiento en ambas especies es diferenciado. Los resultados fueron contrarios a la hipótesis que se planteó.

El crecimiento de *Beaucarnea gracilis* no incluye meristemas laterales o un crecimiento secundario que engrose la base del tallo, sino la actividad del meristemo primario y numerosas divisiones periclinales. Su desarrollo se concentra en la elaboración de una base redondeada y el brote de pocas hojas por actividad del crecimiento primario así como haces vasculares colaterales.

*Beaucarnea pliabilis* no implica el desarrollo único de tejidos vasculares primarios en su tallo sino el desarrollo de meristemas primarios y secundarios entrelazados formando haces vasculares concéntricos anfibasales y la generación de numerosas hojas prolongadas sin engrosamiento en la base del tallo.

Podemos concluir que los meristemas secundarios no siempre intervienen en el engrosamiento de los tallos en *Beaucarnea*, ni los meristemas primarios tienen la única actividad de prolongar la altura de los tallos.

Para *Beaucarnea* se reconocen dos tipos de crecimiento que en este trabajo fueron comprobados: 1) el engrosamiento del tallo por actividad del meristemo primario y divisiones periclinales formando haces vasculares colaterales y 2) el aumento en el espesor del tallo por un meristemo primario que se entrelaza con el meristemo secundario y forma haces vasculares concéntricos anfibasales con divisiones anticlinales.

Es evidente que dentro el mismo género se pueden presentar diferencias en la conformación de las morfologías.

El género *Beaucarnea* no puede ser definido para todas sus especies como un género de crecimiento primario o primario y secundario pues hay más de nueve especies que no han sido estudiadas en esta área. Por lo que se propone analizar el desarrollo de los tejidos vasculares en otras etapas a mayor edad además de repetir la metodología anterior para estudiar las especies restantes de *Beaucarnea* y obtener un estudio integral del género.

## BIBLIOGRAFÍA:

Alvarado L. 2004. Respuesta del Izote pony (*Beaucarnea recurvata* R.) a la propagación in vitro utilizando tejido de semilla botánica como explante, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 60 pp.

Anónimo 1994. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2010 que determina las especies y subespecies de fauna y flora silvestres terrestres y acuáticas en peligro de extinción. Amenazadas, raras y sujetas a protección especial y que establece especificaciones para su protección. Diario Oficial de la Federación.. Mexico. p. 2-60.

Ball E. 1941. The development of the shoot apex and of the primary thickening meristem in *Phoenix canariensis* Chaub., with comparisons to *Washingtonia filifera* Wats. and *Trachycarpus excelsa* Wendl. Amer. J. Bot. 28: 820-832.

Bell A. y A. Bryan.1991. Plant form. An illustrated guide to flowering plant morphology. Oxford University Press. 202 pp.

Bowes. B. 2000. A Color Atlas of Plant Structure. Iowa State Press. Londres. 192 pp.

Cardel Y., V. Rico., J. García., L. Thien., 1997. Ecological Status of *Beaucarnea gracilis*. Lem. (Nolinaceae): an endemic species of the Semiarid Tehuacan Valley, México. Conservation Biology 322 pp.

Cattai M. y N. Menezes. 2010. Primary and secondary thickening in the stem of *Cordyline fruticosa* (Agavaceae). Instituto de Biociencias, Universidad de São Paulo, Brasil. Anais da Academia Brasileira de Ciências (2010) 82(3): 653-662.

Castañeda J. y F. Santacruz. 2008. propagación masiva in vitro de pata de elefante (*Beaucarnea recurvata* Lemaire (Nolinaceae)), Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara, Departamento de producción agrícola.

Castillo G. H. 2011. Estado actual de conservación de *Beaucarnea inermis* (S-Watson) Rose (Ruscaceae) en San Luis Potosí y Tamaulipas, Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ciencias Naturales, Querétaro. Mexico. 109 pp.

Cheadle V. 1937. Secondary growth by means of a thickening ring in certain monocotyledons. Bot. Gaz. 98 (3) 535-555.

Clowes. F. 1958. Apical meristems of roots. Blackwell, Department of botany, University of Oxford. p. 502-528.

DeMason D. 1979. Function and development of the primary thickening meristem in the monocotyledon, *Allium cepa*,. Department of Botany and Plant Sciences. Bot. Gaz. 140:51-66.

DeMason D. 1983. The primary thickening meristem: Definition and function in monocotyledons. Department of Botany and Plant Sciences, University of California. American Journal of Botany, 70(6): p. 955-962.

Diggle P. K y D. A. DeMason.1983. The relationship between the primary thickening meristem and the secondary thickening meristem in *Yucca Whipplei* Torr. Histology of the mature vegetative stem. Department of Botany and Plant Sciences, University of California. American Journal of Botany, 70(8): p. 1195-1204.

García R. O. y G. Malda 2010. Micropropagation and Reintroduction of the Endemic *Mammillaria mathildae* (Cactaceae) to Its Natural Habitat. Universidad Autónoma de Querétaro. Hort Science. 45(6): 934–938.

Gómez C. 2006. Producción de plántulas de Izote Pony (*Beaucarnea recurvata* Rose) utilizando embriones inmaduros como explante, Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Agronomía. Guatemala. 63 pp.

Helm J. 1936. Das Erstarkungswachstum der Palmen und einiger anderer Monocotylen, zugleich ein Beitrag zur Frage des Erstarkungswachstums der Monocotylen überhaupt. *Planta*. (Aus dem Botanischen Institut der Universität Halle 364 pp.

Hernández-Sandoval L. 2001. Conservación y Manejo de las Especies de *Beaucarnea* (Nolinaceae) en México. Informe final del proyecto. Querétaro. México.

Hernández-Sandoval L., M. Osorio., R. Orellana., M. Martínez., M. Pérez., A. Contreras., G. Malda., C. Espadas., K. Almanza., H. Castillo. 2012. Manejo y conservación de las especies con valor comercial de Pata de Elefante (*Beaucarnea*). Editorial Universitaria. Querétaro. Mexico.

Jain M. 1999. Competición Science Visions. Cell differentiation and plant tissue. *Pratiyogita darpan*. p. 649-656.

Johansen D. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill Book Co., New York, 523 pp.

Kraus J. y M. Arduin. 1997. *Manual Básico de Métodos en Anatomía Vegetal*. EDUR (Ed. Universidad Rural), Seropédica, RJ, 198 pp.

Martínez M. y L. Hernández. 1997. *Manual de prácticas de laboratorio del curso botánica, Licenciatura de Biología*, Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro. Mexico. p. 71-73.

Murashige T. y F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, *Plant Physiol*. 15: 473-497.

Orellana R., N. Ayora., C López. 1998. Ex situ studies on five threatened species in the Yucatan Peninsula, Mexico. *Botanic Gardens Conservation News*.1: 20-22.

Rojas P. 2008. Reconstrucción filogenética del clado *Beaucarnea-Calibanus* (RUSCACEAE) basada en secuencias ITS del nrDNA y un estudio M.E.B. sobre adaptaciones foliares asociadas a la pérdida de agua, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. Mexico. D.F. 144 pp.

Rudall. P. 1991. Lateral Meristem and Stem Thickening Growth in Monocotyledons. *Bot. Rev.* 57 (2): 150-163.

Skutch. A. F. 1932. Anatomy of the axis of banana. *Botanical Gazette.* 43 (3): 233-258.

Stevenson D. W. 1980. Radial Growth in *Beaucarnea recurvata*. *Amer. J. Bot.* 67(4): 476-489.

Stevens P. F.2012. (2001 onwards). Angiosperm Phylogeny Website. Version 12. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>

Tomlinson B. y M. Zimmermann, 1969. Vascular anatomy of monocotyledons with secondary growth. *Journal of the Arnold Arboretum*, 50 (2): 158-188.

Tomlinson B. 1995. Non-homology of vascular organization in monocotyledons and dicotyledons. *Monocotyledons: systematics and evolution*, Royal Botanic Gardens, Kew, UK, p. 589-685.