

**UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA**

**IZTAPALAPA**



**Casa abierta al tiempo**

**IDENTIFICACIÓN DE CAMBIOS HISTOLÓGICOS EN FRUTOS DE**

***Escontria chiotilla* PARA FUNDAMENTAR INDICADORES DE**

**COSECHA**

**T E S I S**

Que para obtener el grado de

Maestro en Biología

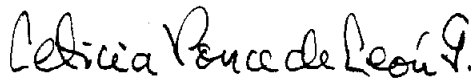
P R E S E N T A

***RUIZ HUERTA ESTHER AURORA***

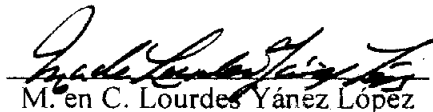
**Marzo/2006**

**La Maestría en Biología de la Universidad Autónoma Metropolitana  
pertenece al Padrón de Posgrados de Excelencia del CONACyT.**

El jurado designado por la **División de Ciencias Biológicas y de la Salud**. De la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis titulada, **IDENTIFICACIÓN DE CAMBIOS HISTOLÓGICOS EN FRUTOS DE *Escontria chiotilla* PARA FUNDAMENTAR INDICADORES DE COSECHA**, que presentó **Esther Aurora Ruiz Huerta**

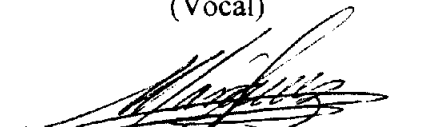


Dra. Leticia Ponce de León García  
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa  
(Presidente)




M. en C. Lourdes Yáñez López  
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa  
(Secretario)

Clara Pelayo Zaldivar  
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa  
(Vocal)



Dra. Judith Márquez Guzmán  
Fac. Ciencias, UNAM  
(Vocal)



Dra. Margarita Collazo Ortega  
Fac. Ciencias, UNAM  
(Vocal)

El día 24 de marzo del año del 2006

El jurado designado por la **División de Ciencias Biológicas y de la Salud**. De la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis titulada, **IDENTIFICACIÓN DE CAMBIOS HISTOLÓGICOS EN FRUTOS DE *Escontria chiotilla* PARA FUNDAMENTAR INDICADORES DE COSECHA**, que presentó **Esther Aurora Ruiz Huerta**

---

Dra. Leticia Ponce de León García  
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa  
(Presidente)

---

M. en C. Lourdes Yáñez López  
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa  
(Secretario)

---

Clara Pelayo Zaldivar  
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa  
(Vocal)

---

Dra. Judith Márquez Guzmán  
Fac. Ciencias, UNAM  
(Vocal)

---

Dra. Margarita Collazo Ortega  
Fac. Ciencias, UNAM  
(Vocal)

El día 24 de marzo del año del 2006

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco y dedico esta tesis muy especialmente a mis queridos hijos Gloria Maria y Juan Manuel, y a mi gran amigo y pareja Juan Miguel Gómez Bernal el cual siempre ha compartido conmigo todas las cosas buenas y malas. A mis padres Gloria y Cristóbal quienes siempre me han brindado su apoyo y me han impulsado a llegar hasta esta etapa en mi vida, a mis hermanos Marisela y Alejandro a todos ellos gracias por ofrecerme siempre su apoyo incondicional así como las palabras adecuadas en el momento preciso. A mi familia política, Maria, Miguel Ángel, Joaquín, Juan Pablo y Martha.

A mi asesora, maestra y amiga, la Dra. Leticia Ponce de León a la cual le debo gran parte de este logro, por haber confiado en mí y por sus grandes consejos que tuvo para mí en los momentos importantes en mi vida.

A mis asesoras y sinodales las Dras. Clara Pelayo, Judith Marquez, Margarita Collazo, M. en C. Lourdez Yáñez, por sus valiosos comentarios y correcciones realizadas en la tesis. A la profesora Margarita Ponce por sus comentarios y observaciones en la tesis.

A mi amiga Claudia Barbosa, por su apoyo, ayuda y enseñanza en el laboratorio, a los chicos de seminario claudia, Denise y Edgar por su ayuda en el laboratorio.

A mis pequeños mostritos, mis sobrinos, Yuli, Regi, Adal, Maxi, Nico, por la alegría y sonrisas que le han inyectado a mi vida. A mis queridos amigos Yesi, Edgar, Dany, Ena, Mento, Luis, Alejandra, etc., por siempre estar cuando los necesito y compartir conmigo todo. A todos gracias por haber participado del alguna forma en la realización de esta tesis.

## INDICE

Índice de figuras.....	III
Índice de tablas.....	V
I. RESUMEN.....	1
II. SUMMARY.....	3
III. INTRODUCCIÓN.....	5
IV. ANTECEDENTES.....	8
❖ Taxonomía.....	8
❖ Trabajos realizados en <i>Escontria chiotilla</i> .....	10
❖ Descripción de <i>Escontria chiotilla</i> .....	12
❖ Descripción de <i>Stenocereus griseus</i> .....	13
❖ Índice de cosecha.....	15
V. JUSTIFICACIÓN.....	16
VI. OBJETIVOS.....	18
VII. HIPÓTESIS.....	19
VIII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
❖ Sitio de estudio .....	19
❖ Trabajo de campo.....	21
❖ Parámetros considerados para establecer el estado de desarrollo.....	22
❖ Obtención de muestras para análisis histológico de flores y frutos.....	25
❖ Aplicación de técnicas histológicas.....	25
❖ Técnica histológica para inclusión en parafina.....	26
❖ Técnica histológica para cortes semifinos L. R. White.....	28

❖	Técnica histológica de microscopia electrónica de barrido para brácteas...	28
❖	Técnicas histoquímicas.....	31
❖	Observaciones en microscopio óptico y obtención de micrografías.....	33
❖	Determinación de parámetros histológicos.....	34
IX.	RESULTADOS.....	35
❖	Flor en antesis estructura del pericarpelo.....	35
❖	Estructura del fruto de la 1ª a la 4ª semana de desarrollo.....	39
❖	Estructura del fruto de la 5ª a la 9ª semana de desarrollo.....	43
❖	Estructura del fruto de la 9ª a la 12ª semana de desarrollo.....	46
❖	Estructura del fruto de la 12ª semana en adelante.....	49
❖	Semilla.....	52
❖	Bráctea.....	56
❖	Cambios más relevantes.....	62
❖	Comparación de algunas características histológicas de <i>Escontria chiotilla</i> con <i>Stenocereus griseus</i> (pitaya) var. ‘Jarra’ .....	63
❖	Establecimiento de un índice de cosecha basado en características histológicas .....	66
X.	DISCUSIÓN.....	70
XI.	CONCLUSIÓN.....	80
XII.	REFERENCIAS.....	81
XIII.	GLOSARIO.....	91
XIV.	ANEXOS.....	97

## INDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b> Filogenia genérica de la tribu pachycereeae por Gibson and Horak (1978).....	10
<b>FIGURA 2.</b> Planta y frutos de <i>Escontria chiotilla</i> .....	13
<b>FIGURA 3.</b> Plantación de <i>Stenocereus griseus</i> (Pitaya var. Jarra).....	14
<b>FIGURA 4.</b> Localización del distrito de Huajuapán de León en Oaxaca.....	20
<b>FIGURA 5.</b> Localización del municipio de Santiago Chazumba.....	20
<b>FIGURA 6.</b> Diferentes estados de desarrollo de <i>Escontria chiotilla</i> .....	24
<b>FIGURA 7.</b> Localización de la bráctea seleccionada en el fruto de <i>E.chiotilla</i> .....	28
<b>FIGURA 8.</b> Esquema de corte longitudinal de <i>Escontria chiotilla</i> .....	34
<b>FIGURA 9.</b> <i>E. chiotilla</i> donde se muestra una flor y frutos en diferentes estados de desarrollo.....	36
<b>FIGURA 10.</b> Corte transversal del ovario en donde se observan varios óvulos en corte longitudinal.....	37
<b>FIGURA 11.</b> Flor en anthesis de <i>E. chiotilla</i> . Corte transversal del pericarpelo.....	37
<b>FIGURA 12.</b> Flor en anthesis de <i>E. chiotilla</i> .....	38
<b>FIGURA 13.</b> Desarrollo del parénquima de la pulpa en los primeros estados de desarrollo.....	40
<b>FIGURA 14.</b> Fruto en el 1er estado de desarrollo (de la 1 <sup>a</sup> a la 4 <sup>a</sup> semana de desarrollo).....	41
<b>FIGURA 15.</b> Corte transversal en fruto de <i>E. chiotilla</i> en el 1er estado de desarrollo.....	42
<b>FIGURA 16.</b> Fruto de <i>E. chiotilla</i> en el segundo estado de desarrollo (de la 5 <sup>a</sup> a la 9 <sup>a</sup> semana de desarrollo).....	44
<b>FIGURA 17.</b> Corte transversal en fruto de <i>E. chiotilla</i> en el 2do estado de desarrollo.....	45



<b>FIGURA 18.</b> Fruto de <i>E. chiotilla</i> en el tercer estado de desarrollo (de la 9 <sup>a</sup> a la 12 <sup>a</sup> semana de desarrollo).....	47
<b>FIGURA 19.</b> Corte transversal en fruto en el 3er. estado de desarrollo en contraste de fases.....	48
<b>FIGURA 20.</b> Fruto de <i>E. chiotilla</i> en el cuarto estado de desarrollo (de la 12 <sup>a</sup> semana en adelante).....	50
<b>FIGURA 21.</b> Corte transversal en fruto en el 4o. estado de desarrollo en contraste de fases.....	51
<b>FIGURA 22.</b> Desarrollo de la semilla.....	54
<b>FIGURA 23.</b> Corte transversal del desarrollo de la semilla de <i>E. chiotilla</i> .....	55
<b>FIGURA 24.</b> Estructura interna de la bráctea.....	57
<b>FIGURA 25.</b> Corte longitudinal de frutos en diferentes etapas de desarrollo de <i>E. chiotilla</i> de la base de la bráctea.....	59
<b>FIGURA 26.</b> Corte longitudinal de frutos en diferentes etapas de desarrollo de <i>E. chiotilla</i> del cuerpo de la bráctea.....	60
<b>FIGURA 27.</b> Parte externa de la base de la bráctea en la parte cercana al pericarpelo.....	61
<b>FIGURA 28.</b> Flor de <i>S. griseus</i> .....	65
<b>FIGURA 29.</b> Estado de desarrollo intermedio de maduración de <i>S. griseus</i> .....	66
<b>FIGURA 30.</b> Óvulos campilótrofos de <i>S. griseus</i> .....	67

## INDICE DE TABLAS

<b>TABLA 1.</b> Características físicas de los frutos. Valores promedios.....	22
<b>TABLA 2.</b> Datos de la primera colecta realizada.....	23
<b>TABLA 3.</b> Datos de la segunda colecta realizada.....	23
<b>TABLA 4.</b> Datos de la tercera colecta realizada.....	23
<b>TABLA 5.</b> Dimensiones de las brácteas de flores y frutos de <i>E.chiotilla</i> .....	58
<b>TABLA 6.</b> Resultados de pruebas histoquímicas.....	62

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**I. RESUMEN**

*Escontria chiotilla* (Weber) Rose es una cactácea cuyos frutos comestibles son consumidos localmente en algunas regiones áridas de México. *E. chiotilla* se caracteriza por la presencia de brácteas en el pericarpelo. El presente trabajo tiene como objetivo establecer las características histológicas que permitan identificar el estado fisiológico óptimo para efectuar oportunamente la cosecha de frutos de *Escontria chiotilla* conservando los atributos de calidad y prolongando la vida de anaquel. Se recolectaron muestras de flores en antesis y frutos de *E. chiotilla* producidos en la Mixteca Oaxaqueña en cuatro estados de desarrollo establecidos por tiempo en semanas. Se compararon las observaciones del desarrollo de fruto en *E. chiotilla* y *Stenocereus griseus* Haworth.

Se realizaron preparaciones de material fresco y procesado (fijación, deshidratación, infiltración, inclusión, corte, tinción) y se elaboraron preparaciones fijas. Se determinaron los principales cambios histológicos del desarrollo del fruto a partir de observaciones en microscopía electrónica de barrido en el pericarpelo del fruto en diferentes estados de desarrollo. También se aplicaron pruebas histoquímicas para detectar y precisar algunos contenidos celulares.

Los resultados muestran que los cambios más importantes en el desarrollo de los tejidos de los frutos son:

- ❖ El parénquima clorofílico presenta engrosamiento de las paredes celulares primarias.
- ❖ La formación del parénquima de la pulpa a partir del desarrollo y aumento de volumen de las células papilares del funículo.
- ❖ La acumulación paulatina de pigmentos en las células vacuoladas del parénquima, en los últimos estados de desarrollo.

**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**

- ❖ El parénquima acuífero presenta acumulación de mucílago en las vacuolas de algunas células, este tejido da origen al aerénquima.
- ❖ Colapso del aerénquima durante la maduración.
- ❖ Las brácteas experimentan cambios significativos de estructura en cuanto al contenido de taninos y la muerte paulatina de células.
- ❖ Un aumento en el número de cloroplastos en las células del parénquima adyacente a la epidermis.
- ❖ La acumulación paulatina de taninos en la cubierta seminal, lo que le confiere la dureza y el color oscuro a la semilla.

Se concluye que los cambios histológicos idóneos para establecer el índice de cosecha en *Escontria chiotilla* y que corresponden al estado camagua de 12 semanas de desarrollo son: suspensión de la multiplicación y expansión celulares, desarrollo completo de la semilla, modificaciones a nivel de la bráctea, colapso del aerénquima y desarrollo del color a partir de la acumulación de cromoplastos y pigmentos en las vacuolas. Estas características se correlacionan con cambios visuales que pueden ser utilizados como indicadores del momento adecuado del corte por el cosechador, por ejemplo el adelgazamiento de la cáscara del fruto debido al colapso del aerénquima, el desarrollo del color típico, y la fragmentación de las brácteas.

Las características estructurales detectadas mediante parámetros histológicos pueden por tanto fundamentar con precisión el índice de corte, permitiendo la cosecha de los frutos en un momento que garantice los mejores atributos de calidad de consumo.

## II. SUMMARY

*Escontria chiotilla* (Weber) Rose. is a cactus tree growing in arid regions of Mexico that produces edible fruits consumed locally. *Escontria chiotilla* is characterized by the presence of bracts in the fruit pericarpel. The aim of this work was to know the histological characteristics identifying the optimal stage of fruit development for harvesting fruits with quality attributes and long shelf life. Samples of flowers in anthesis and fruits in four stages of development defined by weeks after fruit set were collected. Comparisons of fruit development between *E. chiotilla* y *Stenocereus griseus* Haworth. were made. Samples of fresh and processed material (fixation, dehydration, infiltration, inclusion, cut and staining) were taken and fixed preparations were made. Major histological changes of the fruit ovary in different stages of development were determined by scanning electron microscope. Also, histochemical tests were applied in order to identify some cellular contents. Results showed that the more important changes of tissues during fruit development were:

- ❖ An increase of the primary cell wall thickness of chlorophyllic parenchyma.
- ❖ Formation of the flesh parenchyma from the development and volume increase of funiculus papillar cells.
- ❖ Progressive accumulation of pigments in the vacuolated cells of parenchyma in the last stages of development.
- ❖ Aquiferous parenchyma showed accumulation of mucilaginous material in the vacuoles of some cells. From this tissue originates the aerenchyma.
- ❖ Collapse of aerenchyma tissue during maturation.
- ❖ Bracts exhibited significant changes in tannin content and a progressive death of cells.

**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**

- ❖ An increase in the number of chloroplasts in the parenchyma located close to the epidermis.
- ❖ Progressive accumulation of tannins in the seed cover which confers hardness and dark color to the seed.

It was concluded that the harvest index of *Escontria chiotilla* can be based on the following histological changes occurring at 12 weeks of development (camagua stage): Arresting of cell multiplication and expansion, complete development of seeds, changes of bract structure, aerenchyma collapse and development of color from accumulation of pigments in the vacuoles. These histological characteristics are correlated with visual changes that can be used as harvest index by producers such as the thinning of the rind fruit due to the aerenchyma collapse, the development of the typical fruit color and the fragmentation of bracts.

Therefore, the structural characteristics detected by histological observations can be a strong support to establish the harvest index, allowing the harvest of fruits in a stage with the best quality attributes for consumption.

### III. INTRODUCCIÓN

La familia Cactaceae se distingue por ser un grupo monofilético caracterizado por la presencia de areolas; éstas son estructuras meristemáticas encontradas en los troncos de los árboles, costillas, tubérculos y tallos aplanados que pueden dar origen a tricomas, cerdas, espinas, flores, frutos, raíces y hasta a una nueva planta (Arreola, 1997; Bravo-Hollis, 1997).

Esta familia comprende aproximadamente entre 1000 y 2000 especies. Dependiendo del autor y sus criterios de clasificación, se reconocen de 30 a 200 géneros (Bravo-Hollis, 1997). Las cactáceas son endémicas del continente Americano, en donde se distribuyen desde Peace River, en el norte de Canadá, hasta la Patagonia, en Argentina, la mayoría de sus especies se distribuyen en regiones áridas y semiáridas (Arias, 1997). También se encuentran en las islas Galápagos y las Antillas.

Crecen desde el nivel del mar en las dunas costeras hasta los 5100 m de altitud en Perú (Bravo-Hollis y Scheinvar, 1995). En algunas partes de África, Madagascar, Sri Lanka y en zonas cálidas del viejo continente, existen algunas especies de *Rhipsalis* y *Opuntia* (Barthlott y Hunt, 1993).

Las cactáceas se encuentran asociadas a las zonas áridas, semiáridas, subtropicales y tropicales húmedas, pero en donde alcanzan su mayor desarrollo es en los matorrales xerófilos y en los bosques tropicales caducifolios (Bravo-Hollis y Scheinvar, 1995).

La familia Cactaceae ha sido dividida en tres subfamilias: Pereskioideae, Opuntioideae y Cactoideae (Barthlott y Hunt, 1993). Más de la mitad de la familia Cactaceae se encuentra en México y cobra mayor importancia en zonas áridas y semiáridas del país, ocupando el 18.8% y 33.4% respectivamente del total de la superficie mexicana (Piña, 1979), en donde además 18 géneros y 715 especies son endémicas. Dentro de la subtribu Stenocereinae se encuentra el género monotípico *Escontria* (Gibson y Horak, 1978), representado por *Escontria chiotilla*, comúnmente denominada “jiotilla”, “quiotilla” o “chiotilla”, autóctona de los estados de

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

Puebla, Oaxaca, Michoacán y Guerrero (Sánchez, 1984). Es muy abundante en la Mixteca Baja, donde se recolecta para comercializarla en diferentes mercados de Oaxaca, y Puebla. Las especies del grupo de *Stenocereus griseus* incluida *Escontria chiotilla* han sido poco estudiadas.

*Escontria chiotilla* es una planta arborescente, de 3 a 4 m de altura. Tronco corto y grueso, como de 40 cm. de diámetro. Ramas muy numerosas y rígidas, de color verde oscuro, de 20 cm. de diámetro, dicotómicas. Costillas prominentes, en número de 7 u 8, algo crenadas. Aréolas muy próximas, a menudo confluentes, elípticas, como de 1 cm de longitud, con fieltro grisáceo. Con un número de espinas radiales de 10 a 15, subuladas, rectas, extendidas, a veces dirigidas hacia abajo, de 1 cm de longitud. Espinas centrales de 3 a 5, una mucho más larga como de 7 cm de longitud, rectas, subuladas, ligeramente aplanadas, moreno grisáceo con la punta más oscura. Flores en la terminación de las ramas, infundibuliformes, miden incluyendo el ovario, 3 cm de longitud; segmentos interiores del perianto amarillos, acuminados; pericarpelo (tubo) con brácteas papiráceas translúcidas, brillantes, acuminadas, pungentes; axilas sin lana ni cerdas; estambres amarillos; estigma con 8 a 10 lóbulos. Fruto globoso, con brácteas, de color café rojizo, de 3.5 cm de diámetro, pulpa purpurina, dulce, comestible. Semillas negras, de 1.5 mm de anchura y largo, con amplio hilo basal; testa rugosa (Bravo, 1978).

El género *Stenocereus* donde se encuentra *Stenocereus griseus* se describe de hábito de crecimiento arborescente, muy altas, candeliformes, con tronco bien definido y ramas abundantes que forman una copa más o menos amplia. Los podarios del pericarpelo llevan escamas provistas de lana y en ocasiones, de algunas cerdas que aparecen antes de la antesis.



**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**

Fruto carnoso y muy espinoso. Las areolas espinosas de los frutos de la mayoría de las especies de *Stenocereus* caen cuando el fruto madura (Bravo y Sánchez, 1991).

Tanto las pitayas como la jiotilla son especies endémicas del bosque espinoso y del matorral crasicaule; se distribuyen en los estados de Guerrero, Michoacán, Oaxaca y Puebla (Rzedowski, 1986; Arias Montes et al, 1997). Los frutos son comestibles y se comercializan localmente. Watt (1973) afirma que las especies silvestres de un determinado ambiente son las que tienen mayores probabilidades de aprovechar eficientemente los recursos disponibles en el mismo. En este contexto, cabe resaltar la necesidad de realizar estudios de especies silvestres con potencial de aprovechamiento en zonas áridas como los frutos de *Escontria Chiotilla* y *Stenocereus griseus*. La producción de frutos de calidad tanto para el consumo en fresco como para el procesamiento requiere el conocimiento de los cambios que experimentan estos órganos durante el crecimiento para poder cosecharlos en etapas adecuadas de su desarrollo. El conocimiento de estos cambios también es importante para la mejor aplicación de labores culturales como el riego y la fertilización y para establecer mejores técnicas de manejo postcosecha de los frutos. El presente trabajo plantea la utilización de técnicas histológicas como herramienta para identificar el estado de desarrollo adecuado para la cosecha ya que hasta el momento, no hay un índice de corte preciso para los frutos de *E.chiotilla*. El objetivo principal es entonces establecer las características histológicas que permitan identificar el estado fisiológico óptimo para efectuar oportunamente la cosecha de los frutos de esta especie.

## IV ANTECEDENTES

### Taxonomía

La clasificación de las cactáceas ha sido una tarea difícil debido a la ausencia de registros fósiles (Gibson y Nobel, 1986; Bravo- Hollis y Scheinvar, 1995).

La familia cactácea está considerada como un grupo natural que ha evolucionado en los últimos 80 a 60 millones de años (Gibson y Nobel, 1986) y se ha diversificado en un considerable número de especies y formas de vida que se ha establecido en varios ecosistemas. La diversificación se vió favorecida por la aparición de zonas áridas y semiáridas, manifestándose en varias adaptaciones morfológicas, fisiológicas y reproductivas (Cota y Wallace, 1996; Bravo- Hollis, 1997).

La clasificación de las cactáceas ha estado sujeta a diversos criterios científicos desarrollados a través del tiempo. Una de las primeras clasificaciones de los miembros que integran la familia Cactacea fue la de Tournefort, quien, en 1700 en su libro *Intitution Rei Herbariae*, ordenó las especies conocida en esa época en dos géneros: *Opuntia* y *Melocactus* (Bravo- Hollis, 1978). En 1753 Linnaeus en su trabajo *Species Plantarum* nombró 22 especies pertenecientes todas a un solo género, *Cactus* (Gibson y Nobel, 1986). En 1828 la obra *Revue de la familia de las Cactáceas* escrita por De Candolle, divide a la familia de las Cactáceas en dos tribus, tomando como base la placentación de la semilla: *Opuntiacae* y *Rhipsalides* (Guzmán, 1997).

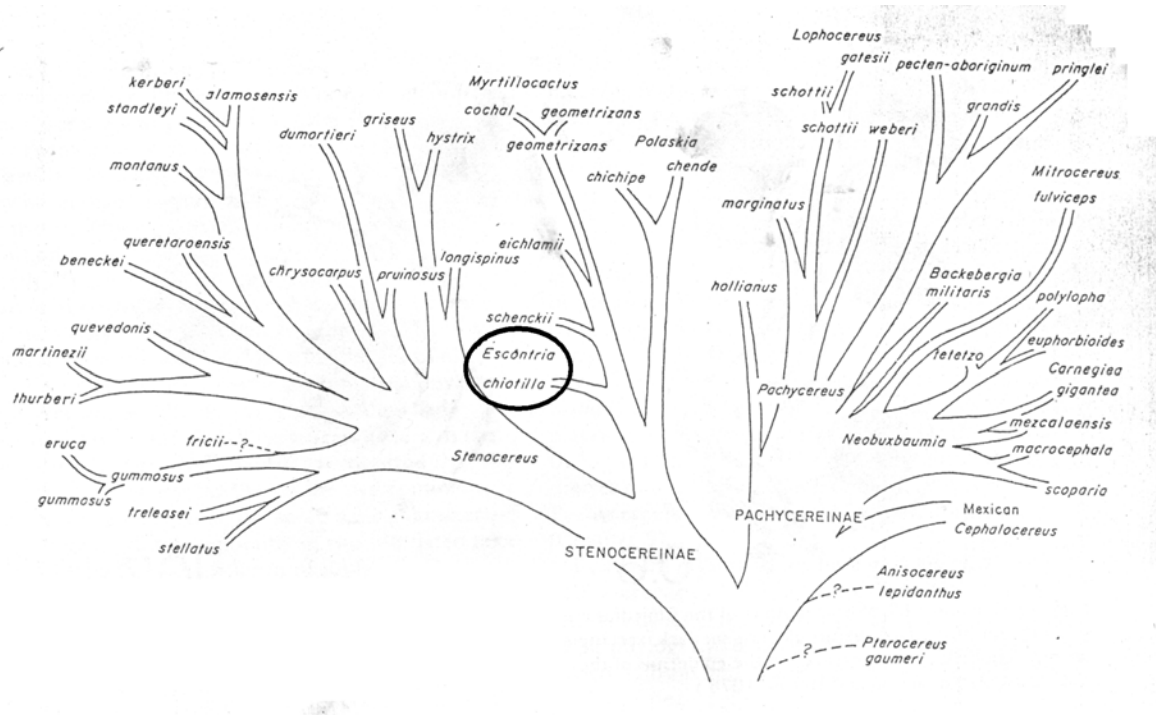
La primera clasificación detallada de las Cactáceas fue publicada en 1898 por Schumann en *Gesamtbeschreibung der Kakteen*. Schumann reconoció 21 géneros que agrupan a tres subfamilias: *Pereskioideae*, *Opuntioideae* y *Cereoideae*. (Gibson y Nobel, 19986; Guzmán, 1997). Más tarde el alemán Backerberg en 1966 publica 80 nuevos nombres genéricos e

**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**

incluye la distribución geográfica en su clasificación. Reconoce 220 géneros y 3100 especies (Gibson y Nobel, 1986; Guzmán, 1997). Buxbaum propuso entre 1958-1974 una clasificación filogenética basándose en el análisis de la flor y semilla. Reconoce 143 géneros y a la subfamilia Cereoideae la agrupa en ocho tribus y en 1974 las ordena en nueve: Leptocereae, Hylocereae, Pchycereae, Browniingiae, Cereae, Trichocereae, Notocactae, Echinocereae y Cactoideae (Guzmán, 1997, Lindley y Anderson, 2001), lo que ha contribuido a simplificar y aclarar algunos aspectos taxonómicos de la familia.

El género *Escontria* ha sido taxonómicamente colocado en la tribu Pachycereae, en la subtribu Pteocereinae, Leuenberge (1976, citado en Gibson y Horak, 1978). Gibson y Horak (1978) con base en caracteres anatómicos, en la química del tallo, pigmentación del funículo, morfología de semilla, forma de crecimiento, morfología y anatomía de las costillas y morfología floral, subdividen a la tribu Pachycereae en las subtribus Pachycereinae y Stenocereinae incluyendo a *Escontria* (fig.1).

**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**



**Fig. 1 Filogenia genérica de la tribu pachycereae por Gibson and Horak (1978)**

**Trabajos realizados en *Escontria chiotilla***

*Escontria chiotilla* y *Stenocereus griseus* son dos especies de cactáceas columnares genéricamente distintas que coinciden en su distribución en los estados de Puebla y Oaxaca, principalmente. El carácter más distintivo en el caso de *E. chiotilla* es la presencia de brácteas mientras que *S. griseus* como la mayoría de las cactáceas presenta espinas.

Se han realizado algunos estudios ecológicos recientes sobre demografía y germinación de especies de la Subtribu Stenocereinae (Rojas-Aréchiga, 2001). Los estudios morfo-histológicos son poco numerosos, entre los recientes destaca el de embriogénesis de *Pereskia lichnidiflora* (Jiménez, 2002) de la Subfamilia Pereskioideae.

**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**

1. Específicamente en *E. chiotilla* se han realizado algunos estudios sobre demografía (Ortega, 2001), germinación de semillas (Martínez, 2003 y Cruz, 2002), fluctuación fotosintética (Martínez, 1987), respuesta fotosintética (Mandujano, 1988) y caracterización morfológica y molecular de un posible híbrido de *Escontria* y *Polaskia* (Cruz, 2002). También se han llevado a cabo tesis sobre diferentes aspectos de los frutos como: caracterización de pigmentos (Pimentel, 1984), utilización de pigmentos (Ramos, 1983); crecimiento y análisis químicos (Huerta, 1998); índice de corte de jiotilla (*Escontria chiotilla*) con base en el color, pigmentos, sólidos solubles totales y acidez titulable (Tapia, 2005); genética de poblaciones silvestres y manejadas de *E. chiotilla* en el Valle de Tehuacán, Puebla (Tinoco, 2001), importancia de *E. chiotilla* en los valles centrales de Oaxaca (Martínez A, 1991), efecto de la orientación en la producción de *E. chiotilla* (Martínez, 1992); jiotilla (*Escontria chiotilla* (F. A. C. Weber) Rose 1906) un cultivo alternativo para zonas áridas (2002); conservación de jiotilla (*Escontria chiotilla*) por métodos combinados basados en la actividad del agua (Méndez. 1988); y vegetative propagation of three species of cactaci: pitaya (*Stenocereus griseus*), tunillo (*Stenocereus stellatus*) and jiotilla (*Escontria chiotilla*) (López, et al., Flores 2000), *Escontria Chiotilla* como recursos alternativos de la Mixteca baja Oaxaqueña. (Gómez, 2002)

### Descripción de *Escontria chiotilla*

#### Clasificación

Reino: Plantae

División: Magnoliopsida

Clase: Magnolopsida

Orden: Caryophyllales

Familia: Cactaceae

Subfamilia: Cactoideae

Tribu: Pachycereaceae

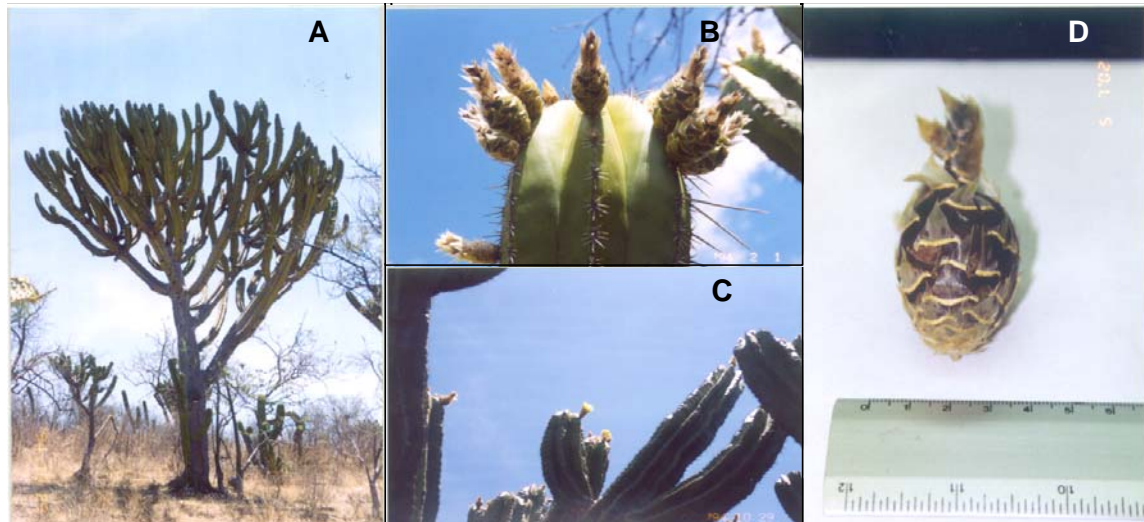
Subtribu: Stenocereinae

Género: *Escontria*

Especie: *E. chiotilla*

La jiotilla (*E. chiotilla*) florece en la Mixteca Baja Oaxaqueña durante los meses de abril a mayo y se cosecha desde principios de junio hasta principios de octubre, produce un fruto comestible (fig.2. A). La fruta es pequeña, 3-5 cm de diámetro ecuatorial, pesa 20 a 25 g en promedio, pericarpio color verde en etapas jóvenes y morada cuando madura, con escamas papiráceas en lugar de espinas de color amarillento y dispuestas en forma concéntrica, formando una corona en la base. La pulpa en la madurez es de color guinda a morada, algo fibrosa y granulosa y con diminutas semillas negras, pulpa suave, jugosa, de aroma característico y ligero sabor agridulce. Esta especie es endémica y crece en forma silvestre, la producción de frutos es para autoconsumo y consumo local (Vigueras y Portillo, 1999). Su sabor agradable y su facilidad de manipulación debido a la ausencia de espinas hace de este fruto un buen recurso alternativo (Armella et al., 2000) en la oferta de frutos comestibles de cactáceas nacionales.

**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**



**Fig. 2.** Planta y frutos de *Escontria chiotilla* (Weber) Rose A). Individuo adulto de *E. chiotilla*. B) Brazo con frutos en diferentes estados de desarrollo. C) Primordios y flores en antesis. D) Fruto maduro.

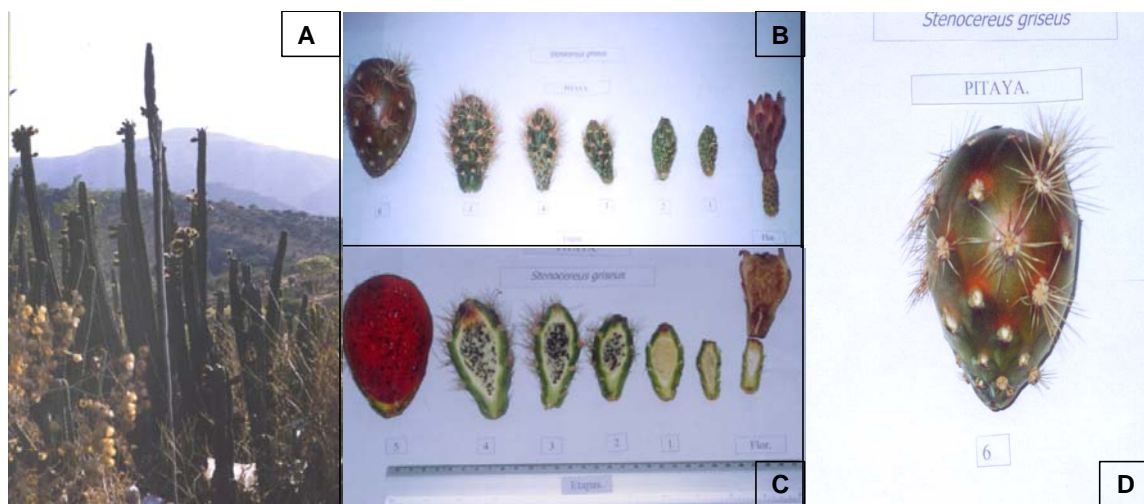
**Descripción de *Stenocereus griseus***

Clasificación

Reino:	Plantae
Subreino:	Embriophyta
División:	Magnoliopsida
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Cariophyllales
Familia:	Cactaceae
Subfamilia:	Cactoideae
Tribu:	Pachycereae
Subtribu:	Stenocereinae
Género:	Stenocereus
Especie:	<i>S. griseus</i>

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

La pitaya (Fig. 3) es el fruto comestible de *S. griseus*, se produce en la Mixteca Baja Oaxaqueña (Bravo, 1978). La temporada de cosecha es de mayo a junio. La antesis ocurre en febrero y marzo (Pimienta-Barrios y Nóbél, 1994). El fruto es redondo a ovalado, el pericarpo es de color amarillo o rojo con tintes verdes cuando madura, posee gran cantidad de areolas y espinas (Mizrahi, et al., 1977). La pulpa presenta diversas tonalidades de color que van de rojo a blanco (Mercado y Granados, 1999). En el caso de la pitaya variedad ‘Jarra’ la pulpa tiene un color característico anaranjado. Su sabor es dulce y jugoso, de textura suave, algo fibrosa y granulosa por la presencia de las semillas que son negras, suaves y abundantes. Su aroma es ligero y característico. Todos estos atributos hacen de la pitaya un fruto de grandes potencialidades de explotación como producto alternativo (Armella y Yañez, 1997).



**Fig. 3. A. Plantación de *Stenocereus griseus* Haworth (Pitaya var. ‘Jarra’). B. Flor y diferentes estados de desarrollo del fruto. C. Diferentes estados de desarrollo del fruto en cortes longitudinales. D. Fruto maduro.**



Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

**Índice de cosecha.**

No existen índices de cosecha reportados para la jiotilla y los recomendados para la pitaya son empíricos (Pérez y Villa, 1984) y no logran identificar con precisión el estado de desarrollo más apropiado para la cosecha (Nerd and Mizrahi, 1998). Los índices de cosecha son características físicas o químicas de las frutas, fáciles de observar, evaluar o medir en el campo, que permiten identificar el momento en que las frutas adquieren buenos atributos de calidad y capacidad para conservarlos durante su manejo, distribución y comercialización.

Para la determinación del índice de cosecha en frutos no climatéricos, como los de las cactáceas, puede medirse la evolución de atributos de calidad físicos, como el porcentaje de pulpa, tamaño, peso, color y brillo, o bien, químicos como el contenido de azúcares, sólidos solubles totales ( $^{\circ}\text{Bx}$ ), acidez y aroma durante todo el desarrollo del fruto. Entonces se procede a la identificación del primer estado de desarrollo que ofrezca las mejores características sensoriales y el mayor potencial de conservación. El parámetro físico o químico que identifique con precisión dicho estado constituye un buen índice de cosecha.

En estudios sensoriales realizados en el Departamento de Biotecnología por estudiantes de la Licenciatura en Ingeniería de los Alimentos, utilizando una población de 250 consumidores de cuatro áreas de la zona metropolitana, se encontró que el estado de desarrollo denominado “Camagua” presentó buenos atributos de calidad y puede ofrecer la mayor capacidad de conservación. Sin embargo, los parámetros físicos como tamaño, forma, peso y rendimiento de pulpa de los frutos, así como los químicos acidez,  $^{\circ}\text{Bx}$  y aparición de algunos compuestos responsables del aroma no lograron identificar con precisión dicho estado (Tapia, 2005; Benítez, 2005).

## V JUSTIFICACIÓN

Los estudios para el establecimiento de índices de corte de jiotilla y pitaya en la Mixteca Baja Oaxaqueña enfrentan condiciones relacionadas a un proceso de domesticación que no incorpora producción a gran escala, las plantas no se encuentran en huertas formalmente establecidas sino que crecen silvestres, sin aplicación de labores culturales, en terrenos frecuentemente inclinados o con pendientes pronunciadas, sin delimitación estricta de las huertas y sin control de la producción de las plantas. Estas condiciones hacen difícil el marcaje de flores para dar seguimiento a los cambios físicos, químicos e histológicos durante el desarrollo de los frutos.

Hasta el momento no se han realizado estudios histológicos para el establecimiento de índices de cosecha. Los cambios histológicos de jiotilla y pitaya desde la floración hasta la madurez, e incluso senescencia del fruto, pueden aportar información para la identificación precisa de los diversos estados de desarrollo por los que atraviesan estos frutos.

Los frutos de jiotilla y pitaya tienen atributos para su comercialización a escala nacional, por lo que se requieren estudios para lograr un mejor manejo postcosecha que garantice su calidad e incremente la vida de anaquel. El fomento de una producción de calidad basada en el mejoramiento del manejo de huerta y el conocimiento de los procesos de desarrollo del fruto son necesarios para comercializar más ampliamente la producción e incrementar la rentabilidad de los pequeños productores en una zona de bajos recursos.

El presente trabajo también tiene la finalidad de establecer una comparación con otra especie de cactácea comestible (pitaya) con el fin de probar si la aplicación o establecimiento del índice de corte propuesto para *Escontria* es útil en una especie de características muy similares.

**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**

La dificultad para determinar el tiempo apropiado de cosecha de los frutos limita la conservación de los mismos y el establecimiento de condiciones adecuadas para prolongar la vida en anaquel. La propuesta de indicadores histológicos asociados con parámetros físicos fácilmente reconocibles por los productores puede facilitar la determinación precisa del momento del corte sin comprometer las características de calidad.

## VI. OBJETIVOS

### General

Establecer las características histológicas que permitan identificar el estado fisiológico óptimo para efectuar oportunamente la cosecha de frutos de *Escontria chiotilla* conservando los atributos de calidad y prolongando la vida de anaquel.

### Específicos

1. Descripción morfo-histológica de las estructuras del ovario de *E. chiotilla*.
2. Descripción morfo-histológica de las estructuras que constituyen el pericarpelo de los frutos de *E. chiotilla* en las primeras 4 semanas de desarrollo.
3. Descripción morfo-histológica de las estructuras que constituyen el pericarpelo de los frutos de *E. chiotilla* de la 5ª a la 9ª semana de desarrollo.
4. Descripción morfo-histológica de las estructuras que constituyen el pericarpelo de los frutos de *E. chiotilla* en la 10ª a la 12ª semana de desarrollo.
5. Comparación morfo-histológica de las estructuras que constituyen el pericarpelo de los frutos premaduros y maduros de *E. chiotilla*.
6. Descripción morfoanatómica de otras estructuras del fruto de *E. chiotilla* que contribuyan a establecer un índice de corte (brácteas, semillas y parénquima de la pulpa).
7. Correlacionar los cambios histológicos con parámetros físicos o visuales que puedan utilizarse como índice de corte.
8. Comparación de algunas características histológicas observadas en *E. chiotilla* con otras especies de Cactáceas con frutos comestibles como la pitaya var. “Jarra” (*S. griseus*).

## VII. HIPÓTESIS

Los cambios histológicos del pericarpelo de los frutos de *E. chiotilla* pueden ser útiles para establecer un indicador fácilmente reconocible que permita a los productores cosechar oportunamente los frutos, de manera que alcancen una madurez de consumo óptima y una prolongada vida de anaquel en condiciones adecuadas.

## VIII. MATERIALES Y METODOS

### Sitio de estudio

El presente trabajo se llevó a cabo con plantas que habitan en la Mixteca Baja de Oaxaca en la localidad de Trinidad de Huaxtepec, perteneciente al municipio de Santiago Chazumba en el Distrito de Huajuapán de León (Fig. 4). La Mixteca baja abarca aproximadamente 10,000 km<sup>2</sup> y está ubicada entre los 1000 y los 1,900 msnm hacia los límites noroccidentales de Oaxaca con Puebla y Guerrero. Sobre materiales sedimentarios, metamórficos e ígneos (López, 1974) de la confluencia de las Sierras Madre del Sur y Oriental se han desarrollado una serie de serranías, lomeríos, cañadas y pequeños valles semicálidos, subhúmedos a semiáridos (500-800 mm de precipitación, Anónimo, 1970; García, 1988) en la cuenca superior del río Balsas, aquí denominado río Mixteco. En estos ambientes predominan los bosques tropicales caducifolios, matorrales espinosos y palmares, la mayoría muy perturbados por el aprovechamiento milenario de las culturas Ñuu Yata y Ñuiñe (Winter, 1996), al que en los últimos 400 años se ha sumado la ganadería (García, 1996), todo lo cual ha resultado en una intensa erosión y en una degradación ambiental generalizada. Las familias de plantas predominantes asociadas con *E. chiotilla* además de las cactáceas son leguminosas y



Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

callí-liso, tzonti-cabellera o en sentido figurado altura o cumbre. Trinidad Huaxtepec se localiza a 6 Km de Santiago Chazumba.

### **Trabajo de campo**

La colecta de frutos se realizó tomando poscriterios establecidos en la tabla 1. Se realizaron tres colectas (Tablas 2, 3 y 4). La primera colecta del 13 al 15 de junio del 2003 en la localidad de Trinidad de Huaxtepec, en la que se cosecharon de manera aleatoria, a partir de 10 plantas silvestres 120 frutos de *Escontria chiotilla* con ayuda de una garrocha, obteniéndose 3 frutos de 4 diferentes estados de desarrollo establecidos por tiempo. Se colectaron, también 15 flores en antesis de los mismos árboles seleccionados para la colecta de frutos.

En el 2004 se realizaron dos colectas en San Juan Joluxtla. Una del 19 al 21 de abril, obteniéndose 47 frutos de *S. griseus* (pitaya) (Tabla 2 y 3). Los frutos de pitaya se cosecharon de 5 plantas de una huerta con ayuda de una garrocha y se seleccionaron de manera aleatoria, obteniéndose 3 frutos de 5 diferentes tamaños. Se recolectaron, también 6 flores en antesis para el estudio del ovario, de las mismas plantas seleccionadas para la colecta de frutos.

El 29 de mayo del 2004 en Trinidad de Huaxtepec se colectaron 15 flores en antesis de *E. chiotilla*, la colecta de las primeras tres etapas fue de 24 frutos, 8 de cada estado de desarrollo.

Se tomaron registros fotográficos del sitio, método de cosecha, árboles muestreados portando flores y frutos, y de los frutos en diferentes estados de desarrollo.

### **Parámetros considerados para establecer el estado de desarrollo**

Los frutos colectados fueron seleccionados considerando 4 estados de desarrollo del fruto y la flor en antesis. Estos estados se establecieron por semanas de desarrollo de los frutos en la planta (fig. 6). Se midieron algunas características físicas de los frutos, se obtuvieron datos de

**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**

peso (gramos), color de la superficie, color de la pulpa, longitud largo y ancho, firmeza., espesor del pericarpelo (mm) y color visual. Estos parámetros se midieron a todos los frutos colectados. La tabla 1 muestra los datos promedio de las características físicas de los frutos de *E. chiotilla*.

En el caso de los frutos y flores colectadas de *S. griseus* se establecieron 4 estados considerados por tamaño y color.

**Tabla 1. Características físicas consideradas para seleccionar los frutos y flores de *E. chiotilla* para el estudio.**

Características físicas de los frutos. Valores Promedio									
Estado de desarrollo	Peso (g)	% de pulpa	Color en superficie (%)	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Cociente L/A	Firmeza	Espesor pericarpelo (mm)	Color visual
Flor en antesis (F)	3		Verde 100%						
4 semanas (E1)	4.5	20.6	Verde 99- 90%	2.1	1.7	1.2	14	3.0-3.9	Verde
5 a 9 semanas (E2)	7.0	27.5	Verde oscuro 70% Verde 30%	2.5	2.1	1.2	15	2-2.9	Verde
10 a 12 semanas Camagua (E3)	17.9	61.1	Verde 15% Púrpura 85 %	3.2	3.0	1.1	13	1.5-1.9	Rojo Púrpura
Más de 12 semanas maduro (E4)	20.9	68	Púrpura 100%	3.4	3.2	1.1	10	1-1.4	Rojo Púrpura intenso



**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**

---

**Tabla 2. Datos de la primera colecta realizada del 13 al 15 de junio del 2003 en Trinidad de Huaxtepec.**

Selección de frutos por estado de desarrollo ( <i>E. chiotilla</i> ).	Para histología		
	No. De Frutos por planta.	No. De Plantas a muestrear.	Sub total De frutos
flor en antesis	3	5	15
4 semanas.	3	10	30
5 a 9 semanas.	3	10	30
10 a 12 semanas o Camagua	3	10	30
Más de 12 semanas maduro.	3	10	30

**Tabla 3. Datos de la segunda colecta realizada del 19 al 21 de abril del 2004 en San Juan Joluxtla**

Selección de frutos por estado de desarrollo ( <i>S. griseus</i> ).	Para histología		
	No. De Frutos por planta.	No. De Plantas a muestrear.	Subtotal de frutos
Flor en antesis	2	3	6
1 Estado.	3	3	9
2 Estado.	3	3	9
3 Estado.	3	5	15
4 Estado.	3	5	15

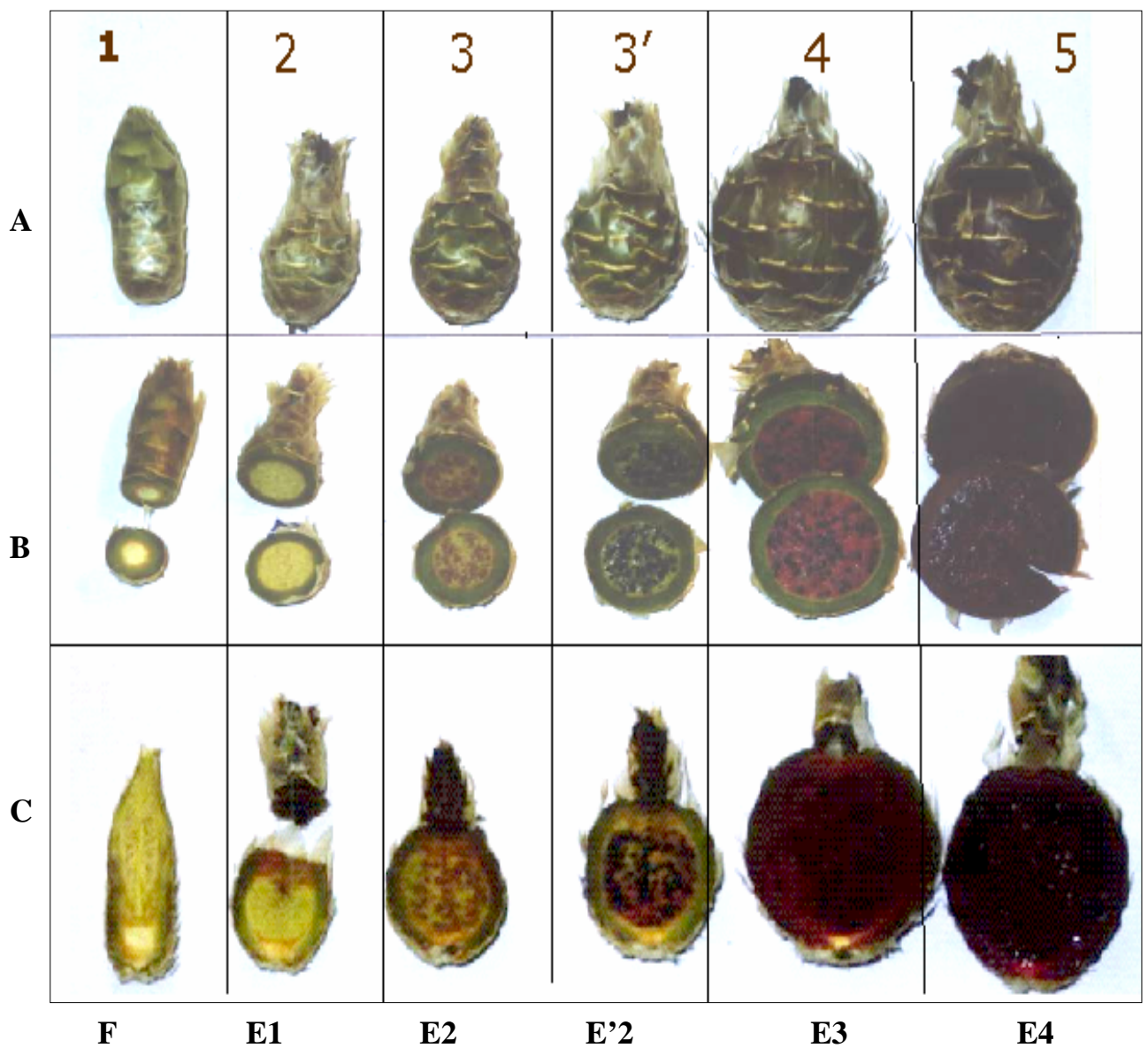
**Tabla 4. Datos de la tercera colecta realizada el 29 de mayo del 2004 en Trinidad de Huaxtepec.**

Selección de frutos por estado de desarrollo ( <i>E. chiotilla</i> ).	Para histología		
	No. De Frutos por planta.	No. De Plantas a muestrear.	Subtotal de frutos
flor en antesis	3	5	15
4 semanas.	2	4	8
5 a 9 semanas.	2	4	8
10 a 12 semanas.	2	4	8

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

Los periodos que se consideraron para coleccionar los frutos fueron (Fig. 6):

- 1.- flor en antesis (F)
- 2.- 4 semanas (E1)
- 3.- 5 a 9 semanas (E2)
- 4.- 10 a 12 semanas conocido como Camagua (E3)
- 5.- Más de 12 semanas maduro (E4)



Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

**Fig. 6. Flores y frutos de *E. chiotilla* (Weber) Rose. A. Diferentes estados de desarrollo de *Escontria chiotilla*. B. Cortes transversales. C. Cortes longitudinales. En el esquema se muestra un estado de desarrollo intermedio para E2, puesto que no había diferencia externa para seleccionarlo, y es en el momento del corte donde se observaron diferencias en el desarrollo de la semilla.**

## **OBTENCIÓN DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS HISTOLÓGICOS DE FLORES Y FRUTOS EN FRESCO.**

Se realizó una determinación morfo-histológica de material en fresco en los diferentes estados de desarrollo desde la flor en anthesis hasta el fruto maduro; los cortes se realizaron con navaja Guillet, también se hicieron algunos cortes en fresco de semillas, se hicieron algunas observaciones externas en la parte del pericarpelo. Se tomaron fotomicrografías en el microscopio óptico de campo claro. Este material sirvió como antecedente para observar la estructura de los frutos de forma más directa y contrastar con las preparaciones fijas de las diferentes técnicas histológicas.

## **APLICACIÓN DE TÉCNICAS HISTOLÓGICAS**

Para inclusión en parafina (Johansen, 1940) y resina se obtuvieron cortes de 10  $\mu\text{m}$  en micrótopo de rotación, e inferiores a 2  $\mu\text{m}$  en ultramicrótopo (semifinos). Se realizaron pruebas histoquímicas para la identificación de algunos contenidos celulares y así ayudar a precisar las observaciones. Estas pruebas se realizaron con cortes de material incluido en parafina a 10  $\mu\text{m}$ .

Se hizo microscopía electrónica de barrido para el análisis en particular de la bráctea en todos los estados de desarrollo.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

### TÉCNICA HISTOLÓGICA PARA INCLUSION EN PARAFINA

**Fijación.** Las flores y frutos en diferentes estados de desarrollo de *E. chiotilla* y *S. grisesus*, después de caracterizarse, se cortaron longitudinal y tangencialmente obteniéndose de 2 a 6 porciones que incluyen tejidos desde la epidermis hasta la pulpa. Los frutos cortados se colocaron en formaldehído, ácido acético y agua (FAA) durante 4 semanas.

**Deshidratación y aclaración.** Cada una de las muestras se colocaron en una bolsita de gasa etiquetada y después en frascos con alcoholes graduales: alcohol etílico y terbutílico (50%, 70%, 85%, 90%, 100%). Los tejidos permanecieron en cada cambio un tiempo aproximado de 5 horas.

**Infiltración.** Enseguida las bolsitas se infiltraron en parafina fundida y se dejaron un día en la estufa a 62.5 °C (punto de fusión de la parafina) aproximadamente. A las 24 horas se transfirieron a otro vaso de precipitados con parafina fundida por 24 horas más a la misma temperatura.

**Inclusión.** Se incluyeron en moldes de aluminio, y una vez incluidas se dejó solidificar la parafina a temperatura ambiente. Posteriormente se desmoldaron.

**Micrótopo.** Bajo el microscopio estereoscópico se elaboraron pirámides con el bloque de parafina para obtener un área de corte más pequeña y uniforme alrededor de la muestra. Se colocó en el porta objetos la muestra y se orientó la pirámide, se decidió el grosor del corte y se usó el micrótopo para trabajar cortes de entre 10 y 12 µm. Los cortes se colocaron en los porta objetos en series de cuatro a cinco dependiendo el tamaño del tejido. Con un lápiz de punta metálica se colocó el número de muestras en una orilla del porta objetos y éste en una canastilla dentro de la estufa a no más de 50 °C. Se dejó dos días, si el tiempo se excede puede haber dificultad para la tinción.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

**Desparafinación.** Para desparafinar se utilizó xileno en tres ocasiones, así como alcohol absoluto también en tres ocasiones; alcohol de 90% y de 70%, solamente una ocasión. Cada uno de estos cambios se hizo cada 4 a 5 minutos; se hicieron tres lavados con agua destilada.

**Tinción.** Con Safranina y Verde rápido. Las muestras se colocaron en safranina de uno a tres días dependiendo del tejido. Se lavó la safranina con agua corriente durante 15 a 20 minutos, o hasta que no hubiera más colorante. Se deshidrató con una serie de concentraciones de alcohol en el orden siguiente: etanol al 50%, 60%, 70% y 80%. Se hizo una segunda tinción con colorante verde rápido, en este paso se dejó solamente tres segundos e inmediatamente se introdujo en un primer frasco con alcohol absoluto, después se pasó a un segundo frasco también con alcohol absoluto, y a un tercero para quitar todo el colorante de exceso. Una vez que se hizo el lavado en el grupo de frascos con alcohol absoluto se pasó a una solución especial para deshidratar.

Finalmente se lavó en un primer frasco con xileno y posteriormente en un segundo frasco también con xileno. En esta parte el material se puede dejar por tiempo prolongado.

**Montaje.** Se limpió el excedente de xileno con una gasa, se aplicó una gota de resina y se colocó el cubreobjetos teniendo cuidado de que no se formaran burbujas. Se presionó un poco el cubreobjetos, se esperaron varios días a que secase la resina y se limpió el excedente de resina cuidadosamente con una gasa y xileno.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

### TÉCNICA HISTOLÓGICA PARA CORTES SEMIFINOS L.R. WHITE

El material fijado en FAA se deshidrató en soluciones graduales de etanol (50%, 70%, 85%, 96%, y 100%, durante dos horas cada uno), después se pasaron a otra serie graduada de LR-White y alcohol absoluto 1:3, 1:1 y 3:1 por 1 hora cada uno. La polimerización se llevó a cabo a 55°C en ausencia de oxígeno. La tinción se hizo con azul de toluidina. Los cortes de 1 µm de grosor se hicieron en un ultramicrotomo con cuchillas de vidrio.

### TÉCNICA HISTOLÓGICA DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO PARA BRÁCTEAS

Para el análisis de las brácteas se seleccionaron 10 frutos de cada estado de desarrollo y 10 de flor en anthesis a los cuales se les midió el ancho y largo de una bráctea; con el propósito de que los resultados fueran comparativos, éstas se tomaron considerando una sola localización como se muestra en la figura 7. El sitio se seleccionó considerando el punto central de las medias de las medidas de longitud y ancho del fruto o flor.

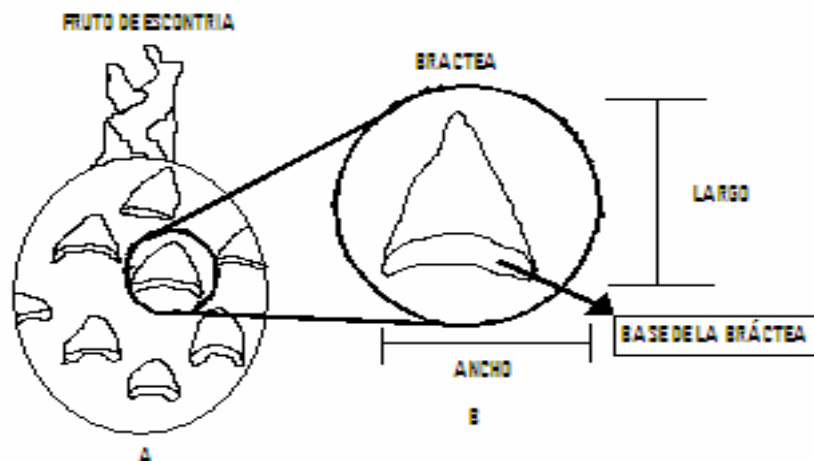


Fig. 7. Localización de la bráctea seleccionada en el fruto de *E. chiotilla* (Weber) Rose.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

Para la microscopía electrónica de barrido se utilizaron 3 escamas de cada estado de desarrollo, tomando una de cada estado para analizar la superficie de la bráctea en general, de la segunda se obtuvieron cortes longitudinales de la bráctea con parte del pericarpelo y de la tercera, cortes transversales en la base de la bráctea tomando como referencia que éstos estuvieran cercanos al pericarpelo.

**Fijación.** Los cortes se hicieron con navajas. También se obtuvieron cortes longitudinales de la bráctea completa y parte del pericarpelo. Enseguida los cortes se colocaron en frascos de ampolleta los cuales se lavaron con solución buffer de fosfatos al 0.02 M (pH 7.2), y luego se agregaron de 2 a 3 ml de fijador de glutaraldehído al 6% y se dejaron durante 20 horas en refrigeración.

**Lavado.** Se eliminó la solución fijadora de glutaraldehído al 6% con pipeta Pasteur y se lavaron los cortes en los mismos frascos tres veces con solución buffer de fosfatos 0.02 M.

**Fijación con solución de osmio.** Se eliminó la solución buffer de fosfato de los frascos con pipeta Pasteur y con las precauciones pertinentes y bajo campana se adicionó solución fijadora de osmio al 2%. Los frascos se taparon herméticamente y se dejaron por cuatro horas bajo campana. Enseguida se retiró la solución de osmio con la pipeta Pasteur y se lavó tres veces con solución buffer de fosfatos 0.02 M para eliminar el exceso de osmio.

**Deshidratación.** Se eliminó la solución buffer de los frascos con los cortes y enseguida se sometieron a una deshidratación gradual con acetona al 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100% permaneciendo en cada una 20 minutos, se realizó otro cambio por 20 minutos con la solución al 90%. Las muestras se dejaron en acetona 100%.

**Desecación al punto crítico.** Los cortes se colocaron en cápsulas microporosas de un tamaño de poro de 60  $\mu$ m embebidas en acetona al 100%, y en el momento de colocar las muestras en

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

las cápsulas previamente etiquetadas se transfirieron nuevamente a acetona al 100%. La desecación se realizó en un desecador de Punto Crítico Samdri 780B.

La desecación consiste en sustituir la acetona por CO<sub>2</sub> líquido, para llevar el CO<sub>2</sub> al punto crítico en el cual se transforma en gas, se somete a una temperatura de 36.1°C y presión de 1070 lb/pg<sup>2</sup>. Para que el CO<sub>2</sub> se mantenga líquido y reemplace a la acetona es necesario enfriar la cámara en donde se encuentran las muestras controlando la presión. Una vez eliminada la acetona, se induce la desecación al punto crítico llevando el CO<sub>2</sub> a la temperatura crítica para transformarlo de la fase líquida a la gaseosa. El CO<sub>2</sub> es eliminado muy lentamente y sustituido por aire. Una vez que la cámara en donde están las muestras alcanza una presión normal las muestras se retiran para ser recubiertas lo más pronto posible. Eventualmente las muestras se conservan en las cápsulas microporosas y dentro de un desecador que contenga sílica gel.

**Montaje y recubrimiento.** Una vez desecados los cortes se montaron en soportes de aluminio pegándolos con cinta de carbón y enseguida se recubrieron con carbón y oro en una evaporadora de Carbono y Oro (Bal-Tec SCD 050 sputter coater).

Este procedimiento consiste en colocar primero una capa de carbón y luego una capa de oro sobre la muestra, esto garantiza la conducción y la recuperación de electrones secundarios, retro dispersos y otras emisiones cuando las muestras son sometidas al flujo de electrones en el microscopio de barrido. El recubrimiento se hace al vacío con la participación del argón. Las muestras recubiertas se mantienen en un ambiente seco colocándolas en un desecador de vidrio. Las muestras así procesadas están listas para ser observadas.

**Observación al microscopio electrónico de barrido.** Los cortes de las brácteas recubiertos de carbón y oro fueron observado en un microscopio de Barrido Zeiss Modelo DSM 940 A.



Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

## TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS

En los vegetales existe una estrecha relación entre la estructura de órganos y tejidos, y los procesos fisiológicos y bioquímicos que ocurren, no solo como resultado del desarrollo, si no también de la interacción con el entorno natural o artificial.

Las técnicas histoquímicas tienen como propósito localizar e identificar cualitativa y cuantitativamente metabolitos y sustancias así como sustratos que participan en la actividad enzimática de tejidos, células y organelos celulares.

Se aplicaron 4 pruebas histoquímicas en muestras de *Escontria chiotilla* de flor y fruto en diferentes estados de desarrollo con el propósito de precisar algunos componentes celulares. Estas pruebas se realizaron sobre cortes histológicos desparafinados de distintas estructuras. A continuación se describen las pruebas utilizadas para los metabolitos específicos de interés.

## PRUEBAS HISTOQUÍMICAS

### 1. Lugol para detectar almidón (prueba no permanente)

- a) Desparafinar.
- b) Hidratar hasta agua.
- c) Aplicar lugol 5% durante 5 min.
- d) Observar en la misma solución, evitando que la preparación se seque. Los granos de almidón incoloros se tiñen de un color morado a negro.

### 2. Rojo “o” Aceite para detectar lípidos (prueba permanente)

- a) Desparafinar.
- b) Hidratar hasta alcohol de 50%.
- c) Aplicar rojo “O” aceite durante 25 min.
- d) Enjuagar con alcohol de 50%.

**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**

- e) Enjuagar con alcohol de 30%.
- f) Enjuagar con agua.
- g) Montar en jalea glicerinada.
- h) Observación de la reacción: las estructuras lipídicas se tornan de color naranja rojizo.

**3. Ácido periódico – reactivo de Schiff (PAS) para detectar polisacáridos insolubles.**

- a) Desparafinar hasta agua
- b) Aplicar ácido periódico durante 15 min.
- c) Lavar con agua
- d) Aplicar reactivo de Schiff durante 15 min.
- e) Lavar con agua
- f) Lavar con ácido acético al 2 % durante 1 min para evitar la formación de cristales
- g) Enjuagar con agua
- h) Deshidratar hasta xilol
- i) Montar en bálsamo de Canadá
- j) Observación de la reacción: los polisacáridos insolubles se tornan de color magenta o púrpura.

**4. Azul mercúrico de Bromo fenol para detectar proteínas (prueba permanente)**

- a) Desparafinar hasta alcohol 96%.
- b) Aplicar azul de bromofenol durante 15 min.
- c) Tratar con ácido acético 0.5 % durante 20 min.
- d) Lavar con agua durante 3min.
- e) Deshidratar hasta xilol.
- f) Montar en bálsamo de Canadá.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

g) Observación de la reacción: las proteínas se tiñen de color azul.

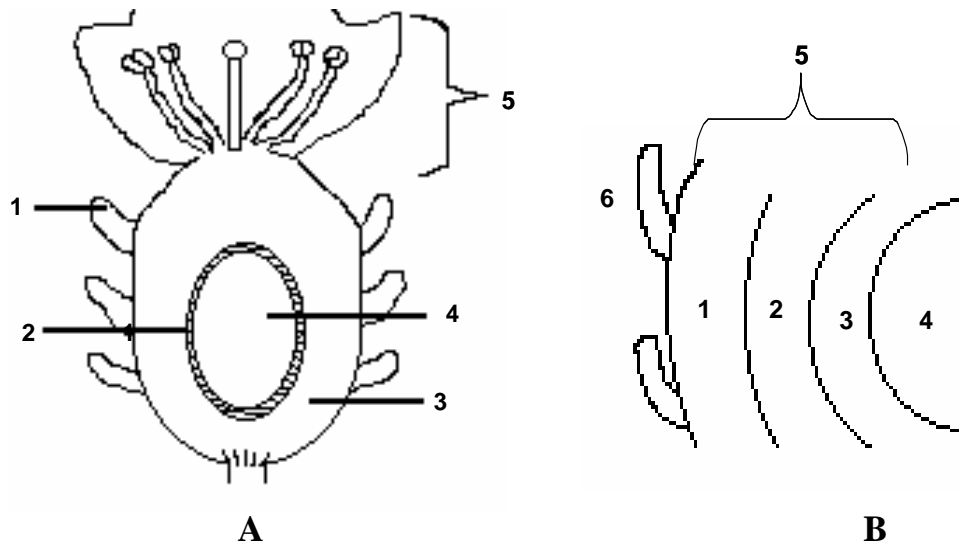
**OBSERVACIONES EN MICROSCOPIO ÓPTICO Y OBTENCIÓN DE  
MICROGRAFÍAS**

Se hicieron observaciones en el microscopio óptico a diferentes aumentos en las preparaciones en parafina y LR-White, asimismo se obtuvieron micrografías de las zonas más representativas o de interés. También se hicieron observaciones en el microscopio de campo claro y de contraste de fases en diferentes aumentos para destacar las diferencias más relevantes en los tejidos.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

### DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS HISTOLÓGICOS.

Localización y descripción de tejidos del pericarpelo (Fig. 8A) y semillas en los diferentes periodos. Para fines de descripción el pericarpelo se dividió en tres partes (Fig. 8B), de la epidermis hacia el lóculo.



**Fig. 8. A)** Esquema de corte longitudinal de *Escontria chiotilla* (Weber) Rose. 1. Bráctea, 2. Pared del ovario, 3. Pericarpelo, 4. Lóculo, 5. Verticilos florales. **B)** Acercamiento del pericarpelo. 1, 2, y 3. División del pericarpelo para fines de descripción. 4. Lóculo, 5. Pericarpelo, 6. Bráctea.

## IX. RESULTADOS

### Flor en antesis y estructura del pericarpelo

La flor infundibuliforme está constituida por el pericarpelo, que es una estructura formada por el receptáculo y la pared del carpelo adosada. El ovario es unilocular y contiene entre 800 y 1400 óvulos campilótrofos. Los funículos son muy conspicuos durante la etapa de fertilización (Figs.9 y 10).

Al madurar el ovario y una vez fecundados los óvulos se convierte en fruto, con el pericarpelo en su exterior. En un corte transversal se pueden observar las siguientes capas: la epidermis monoestratificada, un parénquima pluriestratificado y el lóculo donde se encuentran los óvulos.

El estudio histológico muestra que desde la flor en antesis hasta la última etapa de desarrollo del fruto, las células epidérmicas del pericarpelo permanecen en una monocapa de aproximadamente 30µm de espesor. Las células epidérmicas en esta etapa de desarrollo presentan paredes delgadas, cuya superficie periclinal externa esta cubierta por una cutícula delgada de 8 a 10 µm. Hacia el interior adyacente a la epidermis, se encuentra el parénquima clorofílico que presenta de 3 a 4 estratos con un grosor de 180 µm. Muchas de estas células contienen grandes cantidades de material granular como plastos y o pigmentos. Después continúa un parénquima con células más grandes de 100µm de diámetro, algunas contienen gran cantidad de taninos en el interior de vacuolas. En las células de este parénquima se observan grandes vacuolas con núcleos adosados a la pared celular (Fig. 11a) y por ello se le nombra acuífero.

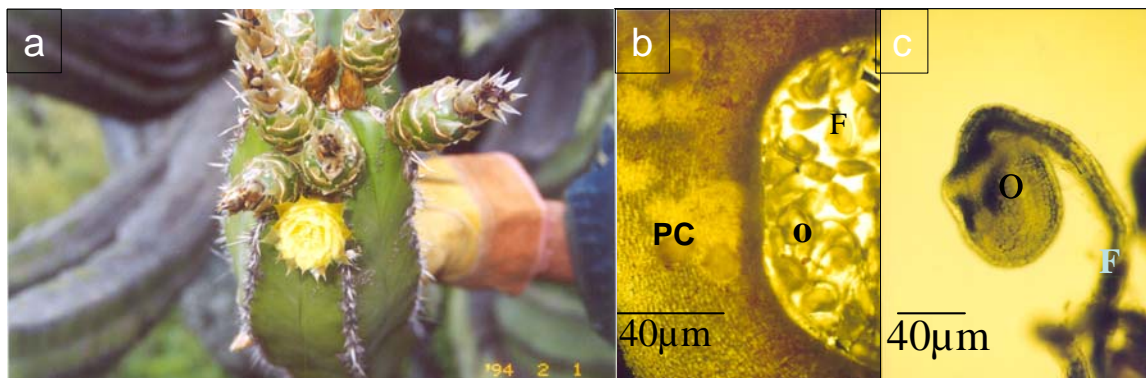
Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

Posteriormente, se observa el parénquima esponjoso el cual posee paquetes de haces vasculares inmersos entre células parénquimáticas pequeñas y en muchas de ellas se observa el núcleo y cloroplastos (Fig.11b). El parénquima de transición el cual se encuentra entre el pericarpelo y el lóculo del ovario, se caracteriza por la presencia de drusas probablemente de oxalato de calcio, contiene células con paredes más gruesas que el resto. Se observan células que contienen pigmentos y algunas con taninos distribuidas en el parénquima (Fig.12d).

En el lóculo se encuentran una gran cantidad de óvulos campilótropos que emergen de la placenta de la pared del ovario con funículos conspicuos (fig 11, 12).

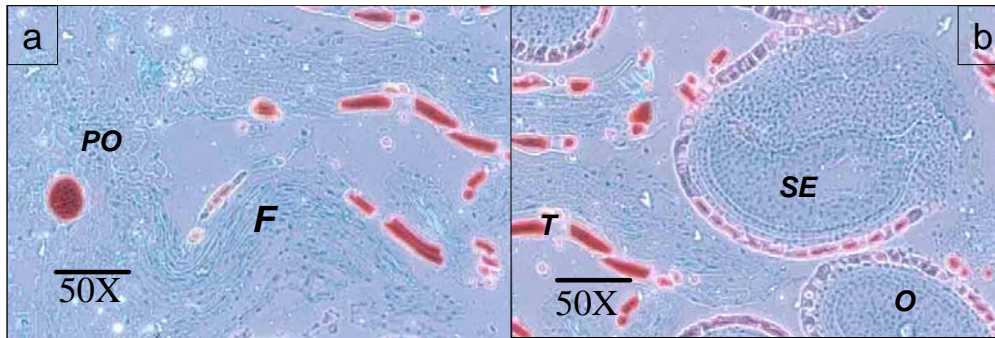
En el tubo floral, el número de brácteas es de alrededor de 35 a 40 y permanecen constantes durante el desarrollo del fruto y hasta su maduración.

Las brácteas son muy vascularizadas miden 900 $\mu$ m de ancho y 1.2 cm. de largo.

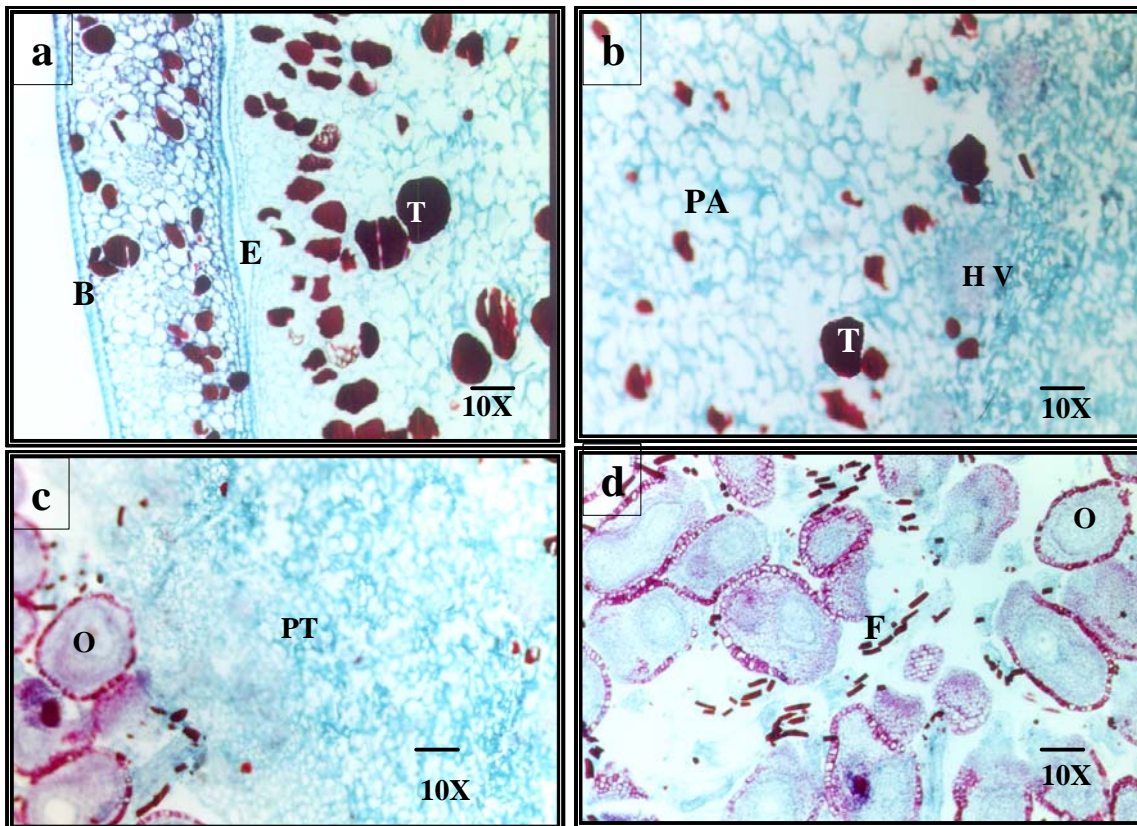


**Figura 9. a) *E. chiotilla* (Weber) Rose donde se muestra una flor y frutos en diferentes estados de desarrollo, b) Corte transversal en fresco de flor en anthesis donde se muestra la cámara unilocular del ovario con óvulos campilótropos, c) Óvulo con funículo conspicuo. Parénquima clorofílico (PC), Óvulo (O), Funículo (F).**

**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**

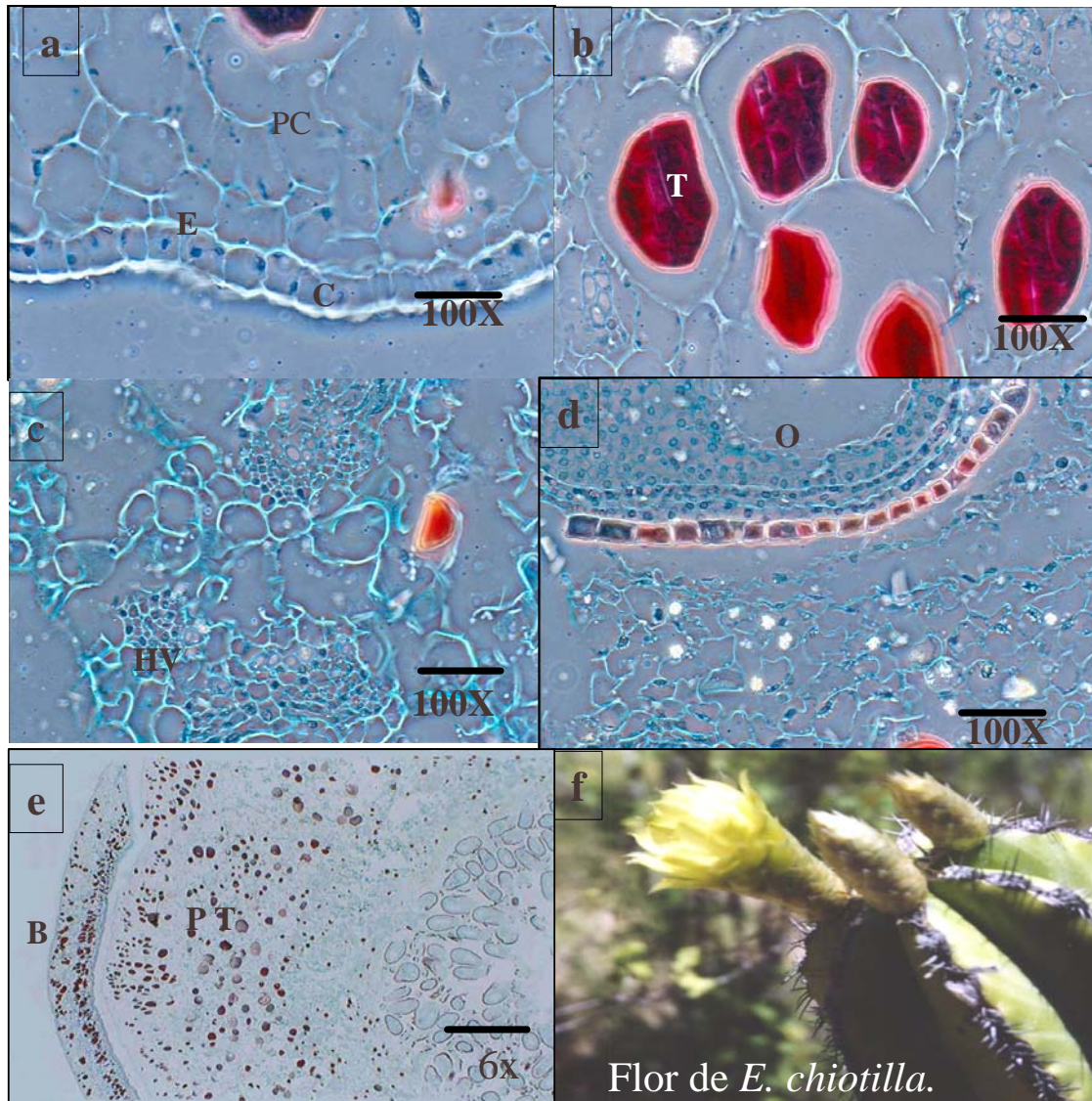


**Fig. 10.** Corte transversal del ovario en donde se observan varios óvulos en corte longitudinal. a) Pared del ovario y funículos con taninos. b) Óvulos con saco embrionario y funículos conspicuos. Pared del ovario (PO), funículo (F), tanino(T), óvulo(O), saco embrionario(SE).



**Fig. 11.** Flor en antesis de *E. chiotilla* (Weber) Rose. Corte Transversal del pericarpelo. a) Bráctea, con parénquima clorofílico, b) Parénquima acuoso y haces vasculares, c) Parénquima de transición próximo al lóculo, d) Lóculo con óvulos. Bráctea (B), Epidermis (E), Parénquima acuífero (PA), Taninos (T), Haz vascular (HV), Óvulo (O), Parénquima de transición (PT), Funiculo (F).

**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**



**Fig. 12. Flor en antesis de *E. chiotilla* (Weber) Rose. a) Corte transversal del pericarpelo donde se observa la epidermis monoestratificada con cutícula y parénquima clorofílico, b) Parénquima acuoso con inclusiones de taninos, c) Haces vasculares, d) Parénquima de transición que rodea al lóculo, e) Corte trasversal del pericarpelo, muestra una vista general de los tejidos desde la bráctea hasta el lóculo. f) Flor en en antesis. Bráctea (B), Cutícula (C), Epidermis (E), Parénquima clorofílico (PC), Taninos (T), Haz vascular (HV), Óvulo (O), Parénquima de transición (PT).**



### **Estructuras del fruto de la 1ª a la 4ta semanas de desarrollo**

Aunque botánicamente un fruto es el ovario maduro (con óvulos fecundados), aquí se considera como fruto tanto al ovario maduro como a los tejidos vegetales que lo envuelven, este conjunto constituye el pericarpelo.

En esta primera etapa de desarrollo del fruto el pericarpelo presenta intensa multiplicación celular de los tejidos y constituye la “cáscara” del fruto. Esto se observó mejor en los cortes en fresco (Fig.13).

La epidermis continúa monoestratificada, con cutícula de 8 a 10  $\mu\text{m}$ . Las células del parénquima próximas a la epidermis son pequeñas de 40  $\mu\text{m}$  de diámetro y forman de 3 a 4 estratos.

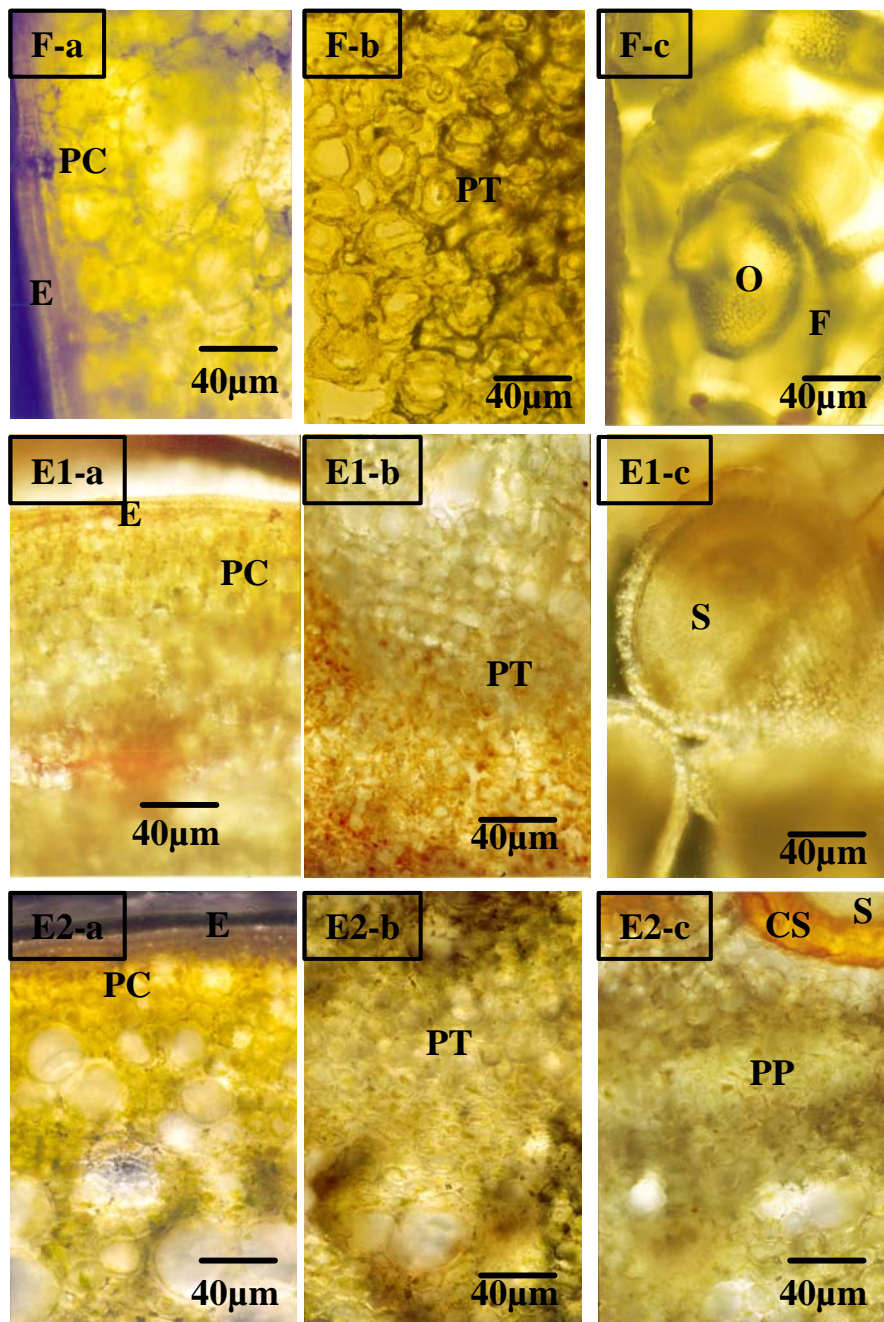
El parénquima clorofílico presenta engrosamiento de paredes celulares hasta formar un tejido colenquimatoso (Fig.14 b).

Las células cercanas al lóculo de 80 $\mu\text{m}$  presentan taninos en forma esférica que ocupan casi todo el lumen celular. La lisis de las células grandes del parénquima origina espacios celulares en ese tejido; los espacios también se forman por la hipertrofia de algunas células.

En el parénquima de transición cercano al lóculo las células son más pequeñas, de 25  $\mu\text{m}$  y las paredes celulares se adelgazan, las drusas persisten.

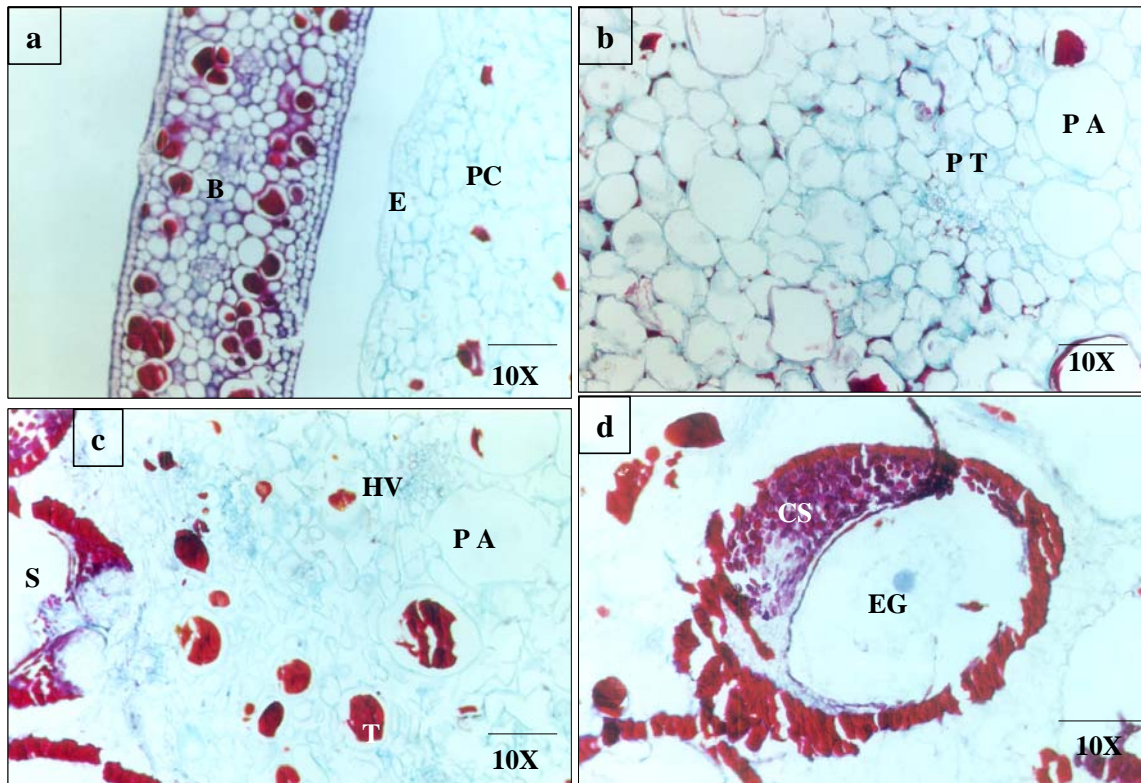
Hay una intensa multiplicación celular en los tejidos del funículo de la semilla, particularmente en las células papilares de la envoltura funicular, las cuales posteriormente darán origen al parénquima de la pulpa. El parénquima que rodea al lóculo tiene células pequeñas de 30  $\mu\text{m}$  con paredes celulares delgadas, dentro de éstas hay drusas, las cuales se observaron como puntos refringentes (Fig.15).

**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**

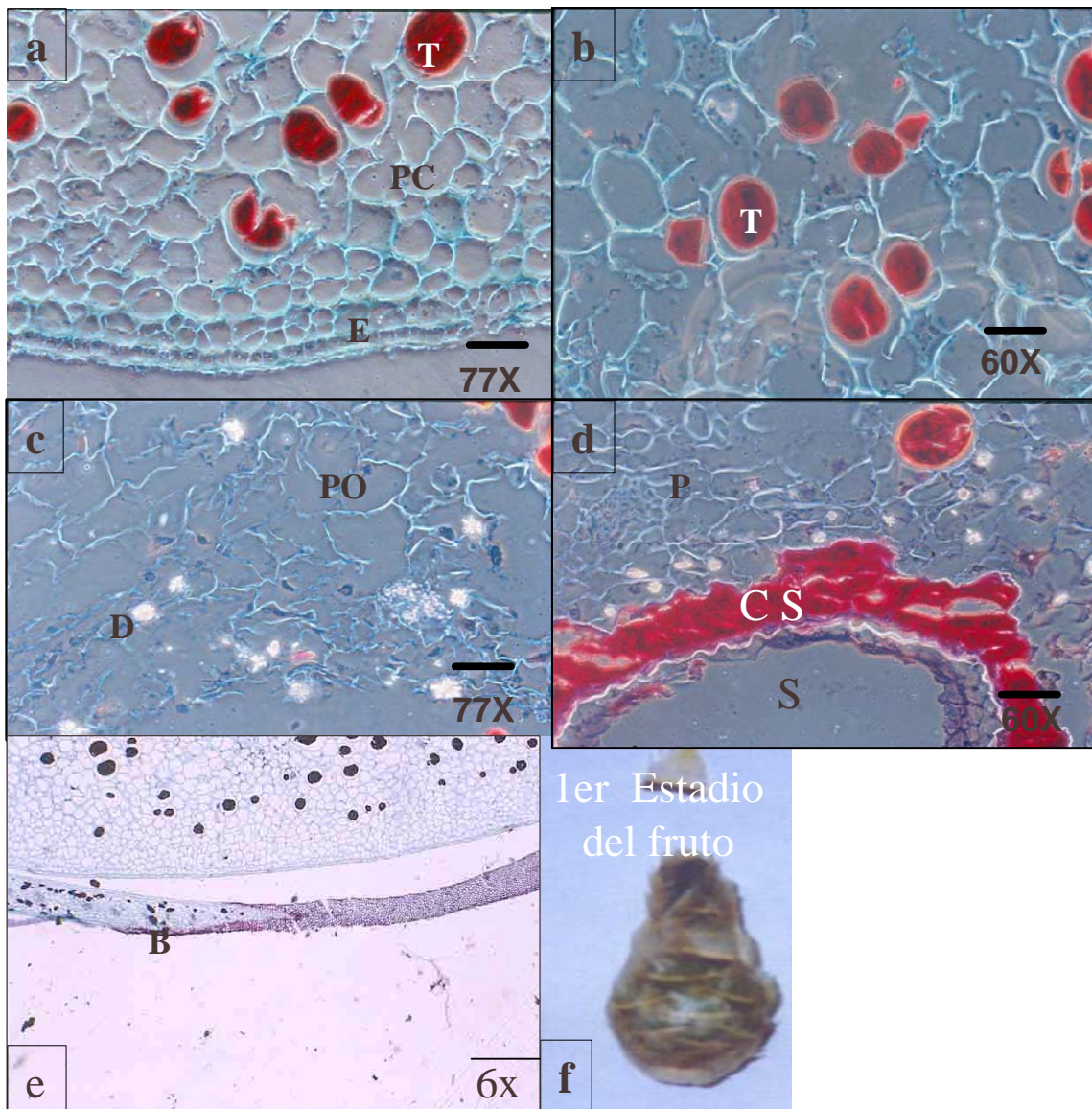


**Figura 13. Formación del parénquima de la pulpa en los primeros estados de desarrollo. Fa,b,c) Desarrollo de la pulpa en los diferentes estados de *Escontria chiotilla* (Weber) Rose. E1, a,b,c) Frutos en la primeras fases de desarrollo. E2, a,b,c) Frutos en la segunda fase de desarrollo. Epidermis (E), Parénquimas: clorofílico (PC), acuífero (PA), de transición (PT), de pulpa (PP); semilla (S).**

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.



*Fig.14. Fruto en el 1er estado de desarrollo (de 1 a 4 semanas de desarrollo). a) Bráctea con haces vasculares, epidermis y parénquima clorofílico con inclusiones de taninos, b. Parénquima de transición y parénquima acuífero, c) Parénquima próximo al lóculo, d) Lóculo con semillas y embrión globular. Bráctea (B), Epidermis (E), Parénquima clorofílico (PC), Parénquima de transición (PT), Parénquima acuífero (PA), Haz vascular (HV), Semilla (S), Taninos (T), Cubierta seminal (CS), Embrión Globular (EG).*

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

**Fig. 15.** Corte transversal en fruto de *E. chiotilla* (Weber) Rose en el 1er estado de desarrollo. a) Epidermis y parénquima clorofílico con taninos incluidos, b) Parénquima con células grandes que contienen taninos algunas con las paredes rotas, c) Parénquima próximo al lóculo con drusas de oxalato de calcio, d) semillas dentro del lóculo, e) Bráctea y parte del pericarpelo, f) Fruto en 1er estado de desarrollo. Bráctea (B), Epidermis (E), Parénquima clorofílico (P C), Parénquima de transición (PT), Semilla (S), Taninos (T), Parénquima (P), Cubierta seminal (CS).

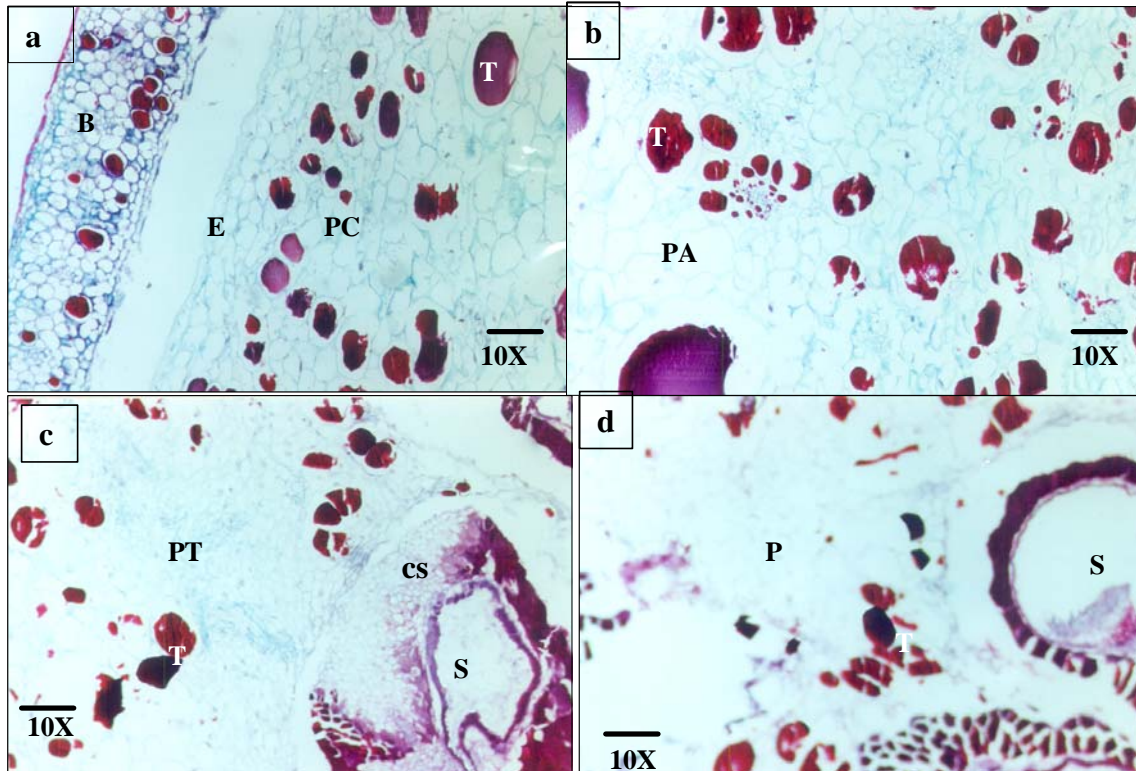
### **Estructuras del fruto de la 5<sup>a</sup> a la 9<sup>a</sup> semana de desarrollo**

La epidermis persiste en capa monoestratificada, los núcleos de las células epidérmicas se adosan a la pared periclinal, se continúan 3 a 4 estratos de células parenquimáticas pequeñas de 30  $\mu\text{m}$  (Fig. 16). Posteriormente hay 6 estratos de parénquima con cloroplastos. Y varias células tienen grandes inclusiones de taninos, de 80  $\mu\text{m}$ .

En el parénquima acuífero se observan células grandes de más de 100  $\mu$  que contienen taninos, se observan además haces vasculares y células de parénquima con paredes delgadas. La lisis celular forma espacios intercelulares. En el parénquima de transición, cercano al lóculo se localizan por lo general drusas. El parénquima que queda en contacto con el lóculo, tiene paredes celulares sumamente delgadas. Las células parenquimáticas son más pequeñas y entre ellas se localizan los haces vasculares, en esta zona se encuentran también células con inclusiones de taninos de dimensiones menores, de 25  $\mu\text{m}$ .

Las células que constituyen el parénquima de la pulpa se multiplican y expanden, éstas tienen paredes celulares delgadas y contienen en su interior drusas y pigmentos y/o taninos en menor cantidad que el parénquima acuífero (Fig.17).

**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**



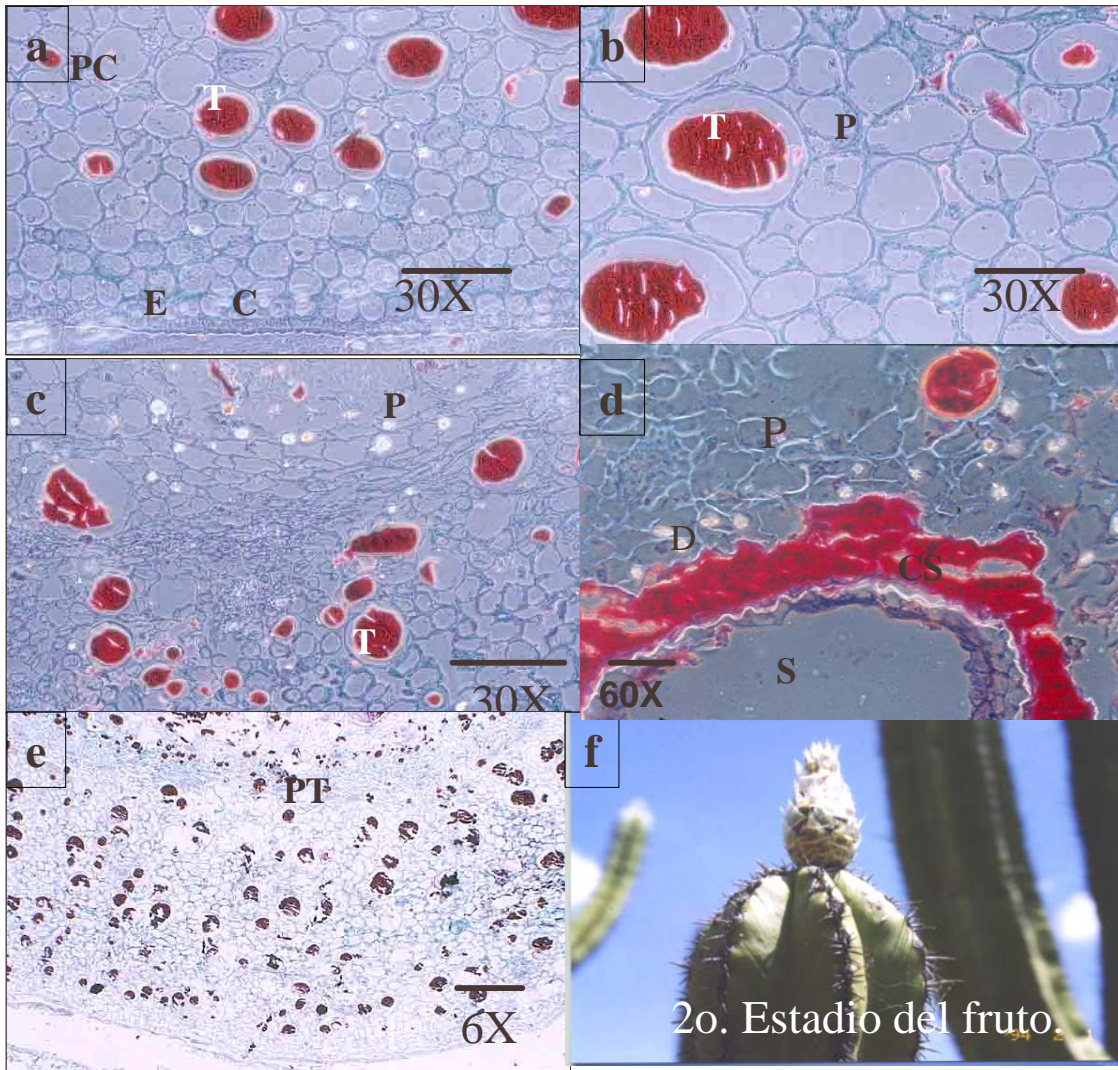
**Fig. 16. Fruto de *E. chiotilla* (Weber) Rose en el segundo estado de desarrollo (de la 5<sup>a</sup> a la 9<sup>a</sup>**

**semana de desarrollo). a) Bráctea y parte del pericarpelo con epidermis y parénquima clorofílico con inclusiones de taninos, b) Parénquima con inclusiones de taninos, c) Parénquima de transición y parte del lóculo, d) Lóculo con la semilla y con una cubierta seminal con taninos.**

**Bráctea (B), Epidermis (E), Parénquima clorofílico (PC), Parénquima de transición (PT),**

**Parénquima (P), Semilla (S), Taninos (T), Cubierta seminal (CS).**

**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**



**Fig. 17. Corte trasversal en fruto de *E. chiotilla* (Weber) Rose en el segundo estado de desarrollo.**

**a) Epidermis con cutícula y parénquima clorofílico, b) Parénquima con inclusiones de taninos, c) zona cercana al lóculo con presencia de drusas y parénquima de la pulpa, d) Lóculo con parénquima de la pulpa y drusas, se observa una semilla con cubierta seminal, e) Pericarpelo y parte del lóculo, f) Planta con fruto en el segundo estado de desarrollo. Bráctea (B), Epidermis (E), Parénquima clorofílico (PC), Parénquima de transición (PT), Parénquima acuífero (P A), Haz vascular (HV), Semilla (S), Taninos (T), Cubierta seminal (CS).**

**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**

---

---

**Estructuras del frutos de la 9ª a la 12ª semana de desarrollo.**

Las células parenquimáticas adyacentes a la epidermis del pericarpelo presentan engrosamiento de sus paredes primarias.

La epidermis engrosa sus paredes y los núcleos se colocan hacia el fondo de las células. Los núcleos de las células epidérmicas se disponen en la pared periclinal próxima al parénquima. La cutícula permanece en 8 a 10  $\mu\text{m}$  de grosor. A continuación de la epidermis, se observan de 2 a 3 capas de células parenquimatosas, adyacentes a la epidermis. El parénquima continúa con células de paredes engrosadas en las que se observa un incremento en el número de cloroplastos. Se observa además un aumento en el tamaño de las células de 70  $\mu\text{m}$  que contienen los taninos y/o pigmentos teñidos de rojo en las micrografías (Fig.18).

En esta etapa el parénquima acuífero, comienza a transformarse en aerénquima, por la expansión de algunas células y la ruptura de otras formando así espacios intercelulares.

Los espacios intercelulares de las células que están cerca del parénquima de transición y del lóculo se hacen cada vez más grandes pasando de 60 a 100  $\mu\text{m}$ , sigue habiendo drusas.

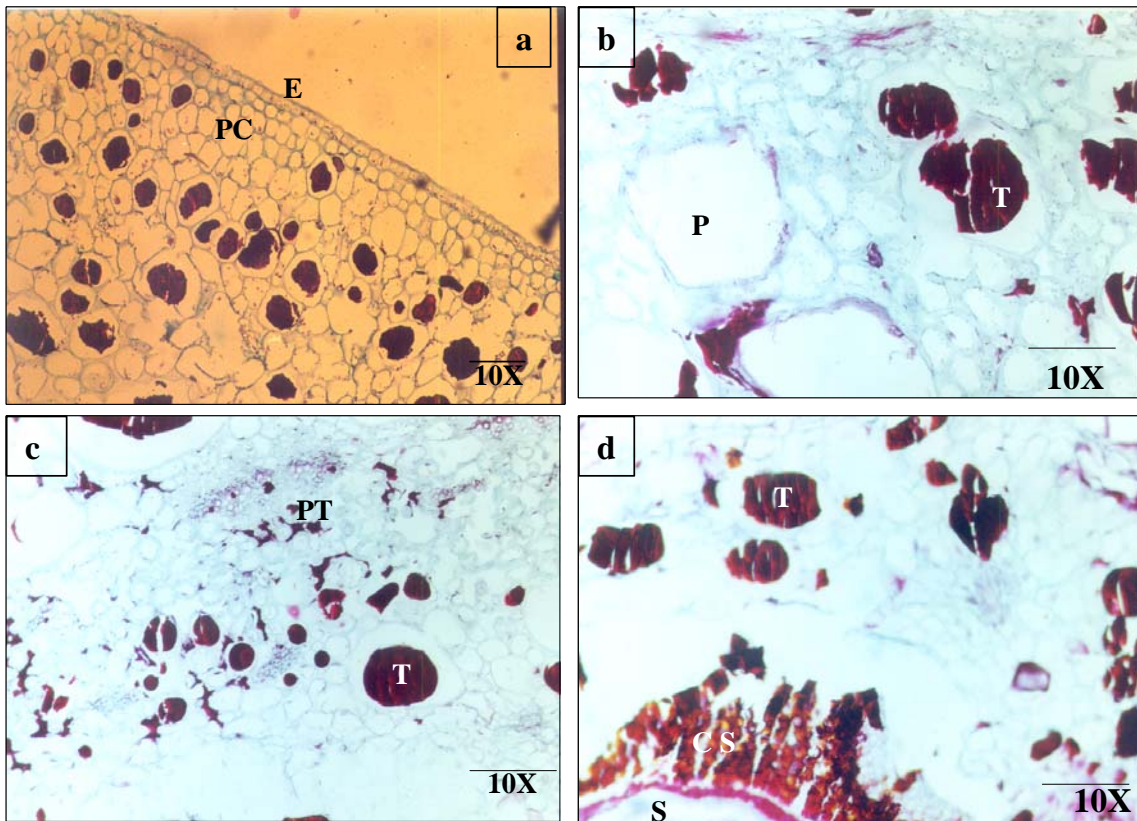
En las células de la pulpa, se observa la mayor acumulación de pigmentos de tipo betalaínas (Tapia González, 2005).

Como ocurre en el proceso de maduración de muchos frutos, se inicia la lisis de las células de la pulpa empezando por regiones próximas al lóculo. La lisis celular forma grandes espacios de 100  $\mu\text{m}$  en el parénquima. El tejido se empieza a degradar y se presenta una acumulación de contenidos celulares. Debido a la dureza de la semilla a partir de ese estado de desarrollo la manipulación del material para el análisis resultó ser más complicado, pues se presentan tejidos de diferentes texturas, desde la más suave como las células mucilaginosas originadas



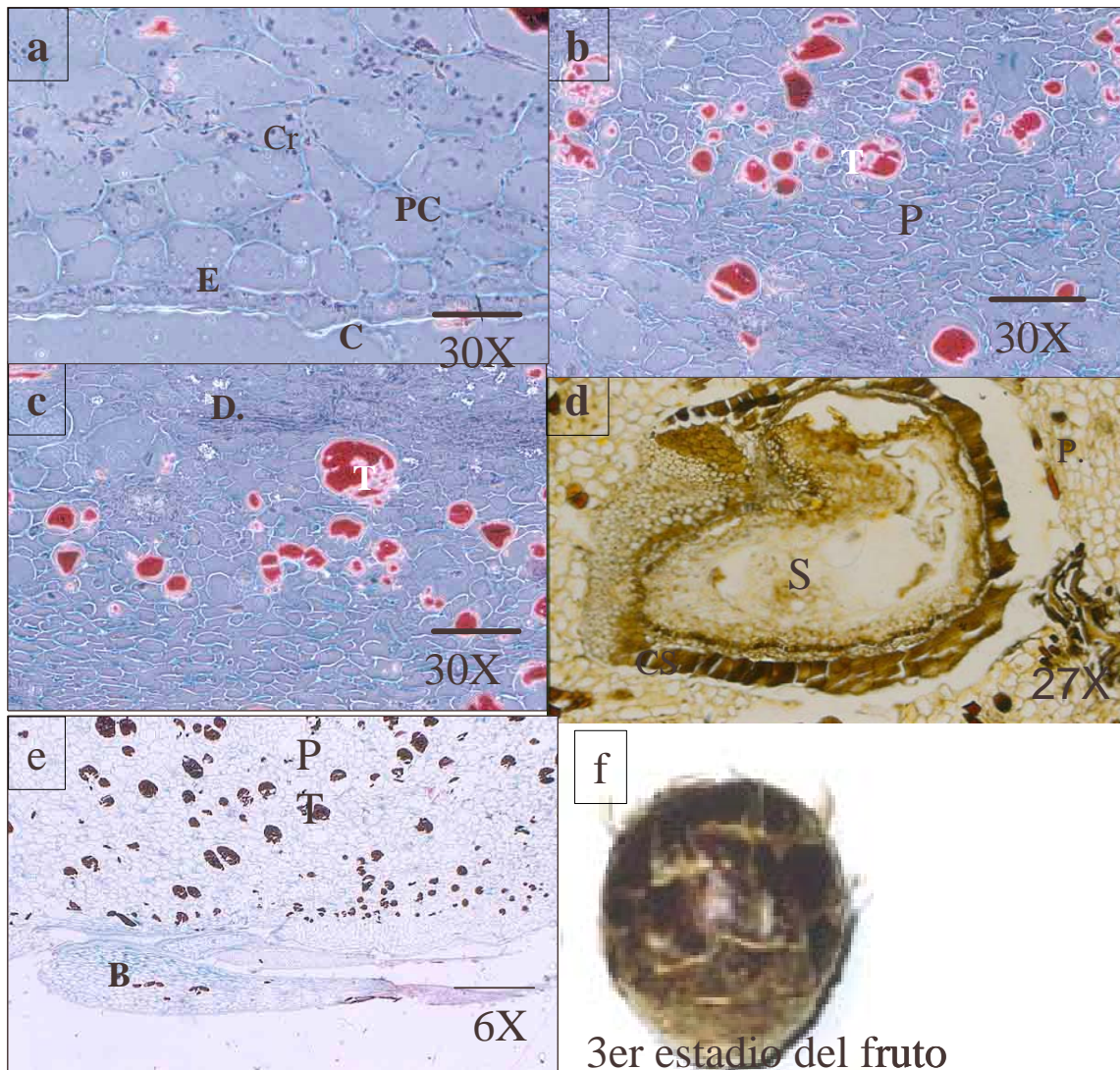
Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

del parénquima de la pulpa, hasta las más duras que son las cubiertas seminales de la semilla, las que en este estado alcanzan su desarrollo final.



**Fig. 18. Fruto de *E. chiotilla* (Weber) Rose en el tercer estado de desarrollo (de la 9ª a la 12ª semana de desarrollo), a) Pericarpelo con epidermis y parénquima clorofílico, b) Parénquima con inclusiones de taninos, c) Parénquima de transición y parte del lóculo, d) Lóculo con parénquima de la pulpa y semilla. Bráctea (B), Epidermis (E), Parénquima clorofílico (PC), Parénquima de transición (PT), Parénquima de la pulpa (PP), Semilla (S), Taninos (T).**

**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**



**Fig. 19.** Corte transversal en fruto en el 3er. estado de desarrollo en contraste de fases, a) Epidermis con cutícula y parénquima clorofílico, b) Parénquima con inclusiones de taninos, c) Zona cercana al lóbulo de parénquima con presencia de drusas, d) Lóculo con parénquima y drusas se observa una semilla, e) Pericarpelo y bráctea f) fruto en el 3er. estado de desarrollo. Bráctea (B), Epidermis (E), Cutícula(C), Parénquima (P), Drusa(D), Semilla (S), Taninos (T), Cubierta seminal (CS), Cromoplastos (Cr).

### **Estructuras del fruto de 12<sup>a</sup> semanas de desarrollo en adelante**

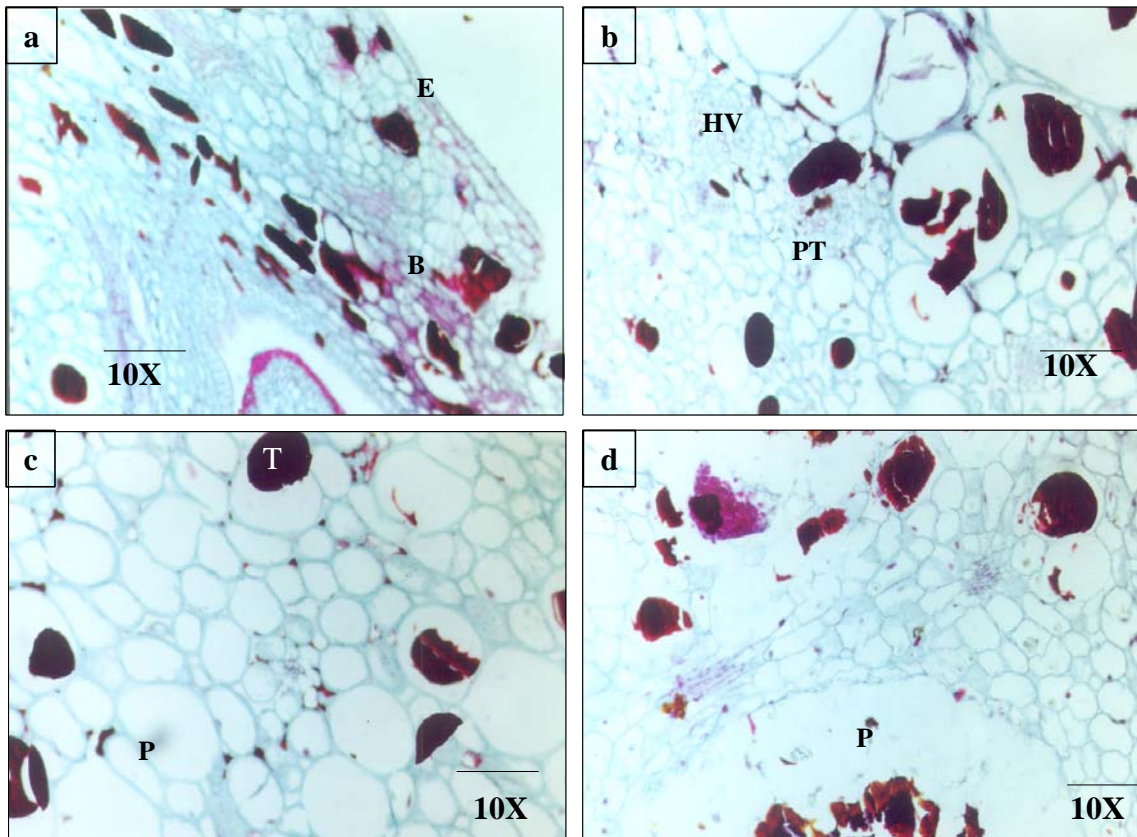
A las 12 semanas desarrollo los frutos pasan de premaduros (Camagua) a maduros, los tejidos del pericarpelo presentaron las siguientes características: las células epidérmicas siguen conservando el núcleo en la base y la cutícula se engrosa alcanzando 15  $\mu\text{m}$ . El parénquima adyacente a la epidermis posee de 2 a 3 estratos de células pequeñas que engrosan un poco sus paredes primarias, algunas células aún poseen núcleos y otras presentan drusas. Adosados a la pared celular se encuentran cloroplastos, cromoplastos y pocos taninos (Fig. 20).

Posteriormente, se continúa con otras capas de células parenquimáticas que aumentan su tamaño y el contenido de taninos y/o pigmentos. La acumulación de pigmentos en las células de este estrato le da al fruto su color púrpura externo. El aerénquima se colapsa respondiendo a la presión ejercida por el crecimiento del parénquima que se origina por la multiplicación de las células papilares de los funículos y debido a la resistencia que oponen las células de la epidermis. .Aumenta también la cantidad de cloroplastos.

El parénquima de transición esta formado por células con paredes muy delgadas donde se presentan taninos y pigmentos. La cantidad de drusas aumenta mucho en el tejido que circunda al lóculo y al tejido interocular.

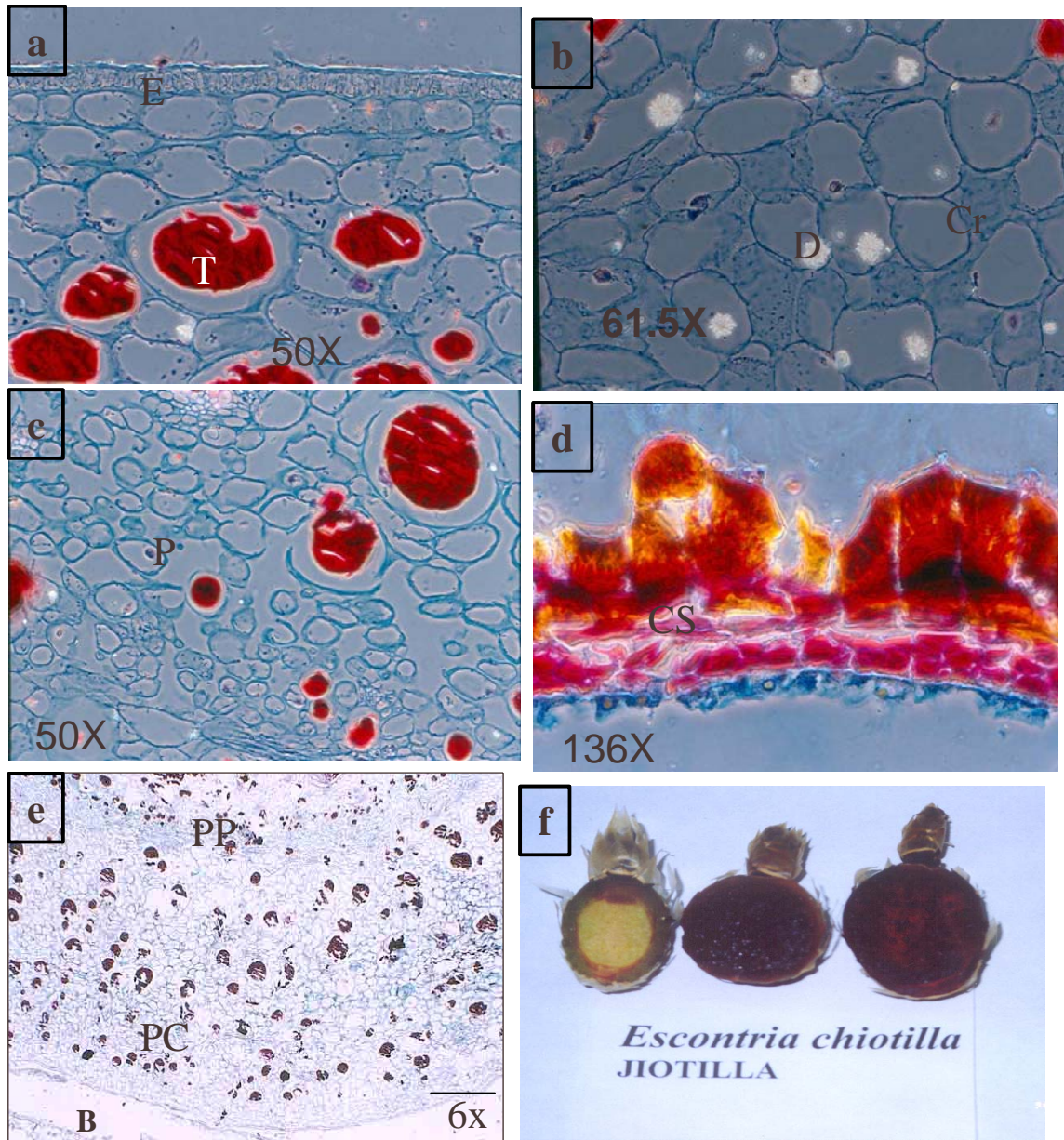
Comparando con el estado de desarrollo premaduro (Camagua), no se encuentran muchos cambios en cuanto al desarrollo de los tejidos, a excepción de la acumulación de los pigmentos (cromoplastos) en el parénquima cercano a la epidermis, en el pericarpelo y en el parénquima de la pulpa.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.



**Fig. 20.** Fruto de *E. chiotilla* (Weber) Rose en el cuarto estado de desarrollo (de 12<sup>a</sup> semanas de desarrollo en adelante). a) Pericarpelo con epidermis y parénquima clorofílico, b) Parénquima con inclusiones de taninos, c) Parénquima de transición y parte del lóculo, d) Lóculo con parénquima de la pulpa y semilla . Bráctea (B), Epidermis (E), Parénquima clorofílico (PC), Parénquima de transición (PT), Parénquima de la pulpa (PP), Semilla (S), Taninos (T).

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.



**Fig. 21.** Corte transversal en fruto en el 4to. Estado de desarrollo en contraste de fases. a) Epidermis con cutícula y parénquima clorofílico, b) Parénquima con inclusiones de tanino, c) Zona cercana al lóbulo de parénquima con presencia de drusas, d) Lóculo con parénquima y drusas, se observa una semilla, e) Pericarpelo y bráctea, f) fruto en el 3er. estado de desarrollo. Bráctea (B), Epidermis (E), Cutícula(C), Parénquima (P), Drusa(D), Semilla (S), Taninos (T), Cubierta seminal (CS), Cromoplastos (Cr).

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**Semilla**

El fruto maduro contiene entre 800 y 1400 semillas por fruto, miden de 1 a 2 mm y son de color negro brillante (Fig. 23 c). Presentan en la cubierta seminal esclerénquima que les confiere dureza, un gran contenido de taninos y externamente, una capa de cutícula estriada (Fig. 23 b). Las células del funículo se multiplican, expanden e incrementan el jugo vacuolar, formando el parénquima de la “pulpa” del fruto (Fig.23a).

La semilla consta del embrión, perispermo, testa, micrópilo e hilo. El primordio de la planta donde están embozados los órganos fundamentales es el embrión. En las cactáceas el embrión es grande y ocupa toda la cavidad de la semilla, está compuesto por el eje primordial, la radícula y los cotiledones; el epicótilo y el hipocotilo son porciones del eje que están diferenciadas arriba y abajo, respectivamente, de la inserción de los cotiledones. Los cotiledones son grandes y curvos y el hipocotilo es delgado y aún más reducido en las especies arborescentes de la tribu *Pachycereae*, entre las cuales se encuentra *Escontria chiotilla* (Flores 1973).

El endospermo, tejido de almacenamiento que se forma a partir del saco embrionario al efectuarse la fecundación, persiste en forma de una capa sobre la radícula en algunos géneros. El perisperma se forma a expensas de la nucela y también es un tejido de almacenamiento.

La testa de la semilla se origina de los dos tegumentos de los rudimentos seminales, cada tegumento consta de dos capas de células que aumentan en la región micropilar. En el tegumento interno existe una pequeña abertura que es el micrópilo, el externo no llega al micrópilo, y sus células contienen abundantes taninos que son responsables de la dureza y del color oscuro de la testa. El color generalmente es negro, la superficie puede ser lisa hasta verrucosa, generalmente dura. El funículo deja una cicatriz al desprenderse a la que se le llama

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

hilo, cuya forma, posición y tamaño varían. El micrópilo, formado desde el óvulo, es un poro pequeño por el cual sale la radícula del embrión en la germinación.

El desarrollo de la semilla, que se observó desde flor hasta fruto maduro dio lugar a las siguientes observaciones: los óvulos en la flor en anthesis en un corte trasversal presentan el saco embrionario bien constituido. Se observa una capa de taninos que circunda la pared de los funículos, la epidermis externa del tegumento externo de los óvulos está recubierto por taninos (Fig.22 a).

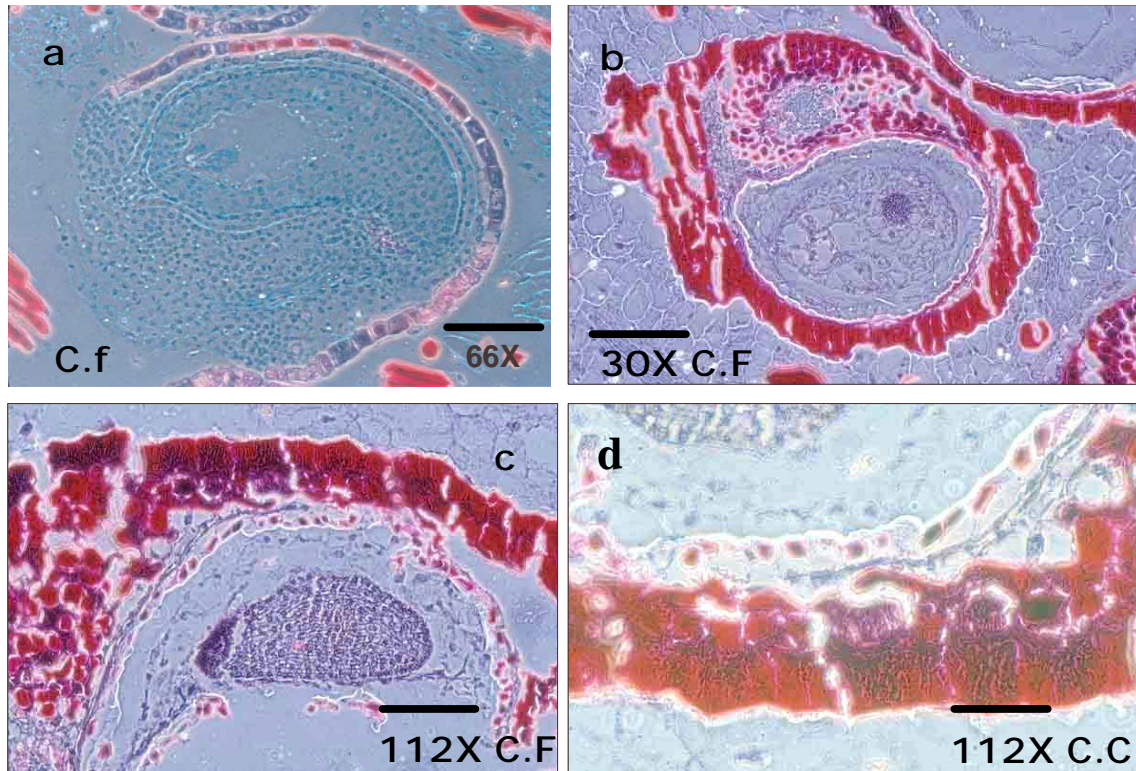
En el **primer estado de desarrollo** las células del tegumento externo de la semilla se expanden y acumulan taninos. El endospermo empieza a desarrollarse, las sinérgidas son persistentes en el saco embrionario, el embrión está en etapa globular temprana (Fig.22 b).

En el **segundo estado de desarrollo**, el contenido de taninos del tegumento externo de la semilla aumenta notablemente. El tegumento interno también acumula taninos, hay una cutícula nucelar gruesa (Fig.22c). Parte del endospermo se vuelve celular y el embrión crece.

En el **tercer estado de desarrollo**, el embrión llena completamente el lóculo de la semilla y se encuentra totalmente desarrollado, se localizan numerosos embriones de tipo torpedo. El endospermo ya se ha consumido y se reduce a un solo estrato celular, excepto en la zona de la calaza donde aumenta el número de estratos.

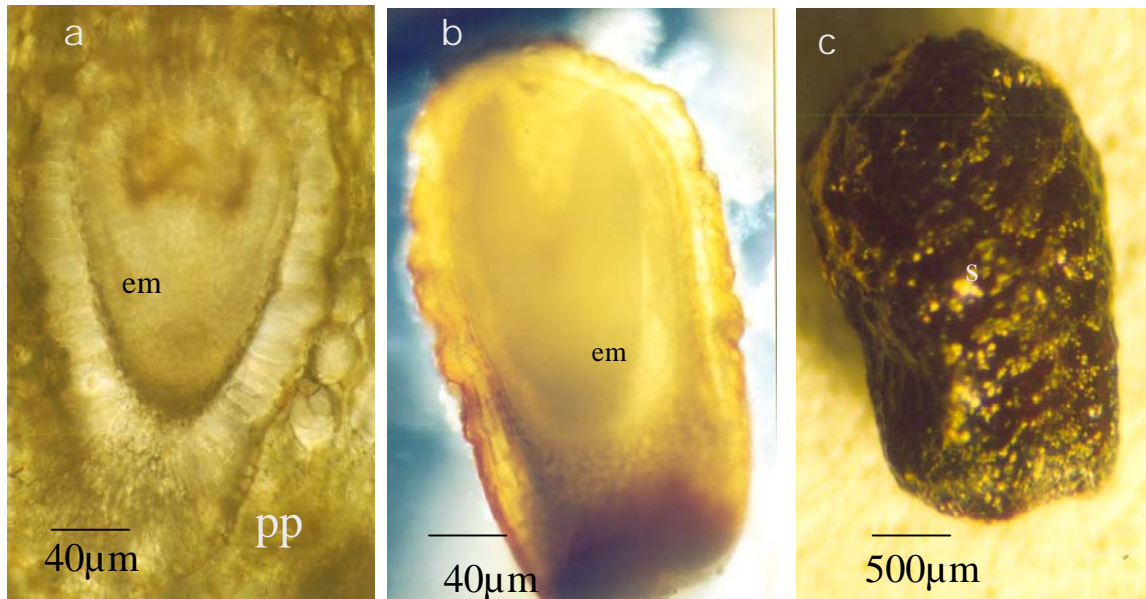
Las células del embrión tienen gran cantidad de inclusiones. La cubierta seminal se hace muy gruesa y se endurece. Tanto la epidermis externa del tegumento externo como la epidermis interna del tegumento interno están completamente formadas (Fig.22d).

En el **cuarto estado de desarrollo**, la cubierta seminal ha aumentado su dureza el embrión ya alcanzó su máximo desarrollo quedan restos de endospermo. La capa uni-estratificada del endospermo contiene almidón.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

**Fig. 22. Desarrollo de la semilla. a) Óvulo con la epidermis del tegumento externo con inclusiones de taninos, b) Semilla con embrión globular y un aumento notable de la cantidad de taninos en testa., 3 Embrión globular tardío con taninos en el endotegium y la exotesta, d) Cubierta seminal mayor aumento.**



Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

**Fig. 23.** Corte trasversal del desarrollo de la semilla de *E. chiotilla* (Weber) Rose. a) Embrión rodeado de parénquima de la pulpa, b) Embrión en torpedo, c) Semilla madura con testa lignificada. Embrión (em), Parénquima de la pulpa (pp), Semilla (S).

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**Bráctea**

En la flor en antesis, las brácteas miden  $900\mu\text{m} \pm$  y están vascularizadas (Fig. 24). Contienen una gran cantidad de haces vasculares y están constituidas por dos epidermis abaxial y adaxial en medio de las cuales hay parénquima. Al interior de las células de este parénquima hay inmersos taninos. La bráctea presenta muerte celular progresiva conforme avanzan los estados de desarrollo. En la última etapa del desarrollo se observan células vivas sólo en la base de la bráctea y en el resto de las células hay acumulados una gran cantidad de taninos, lo que las conduce a la muerte celular.

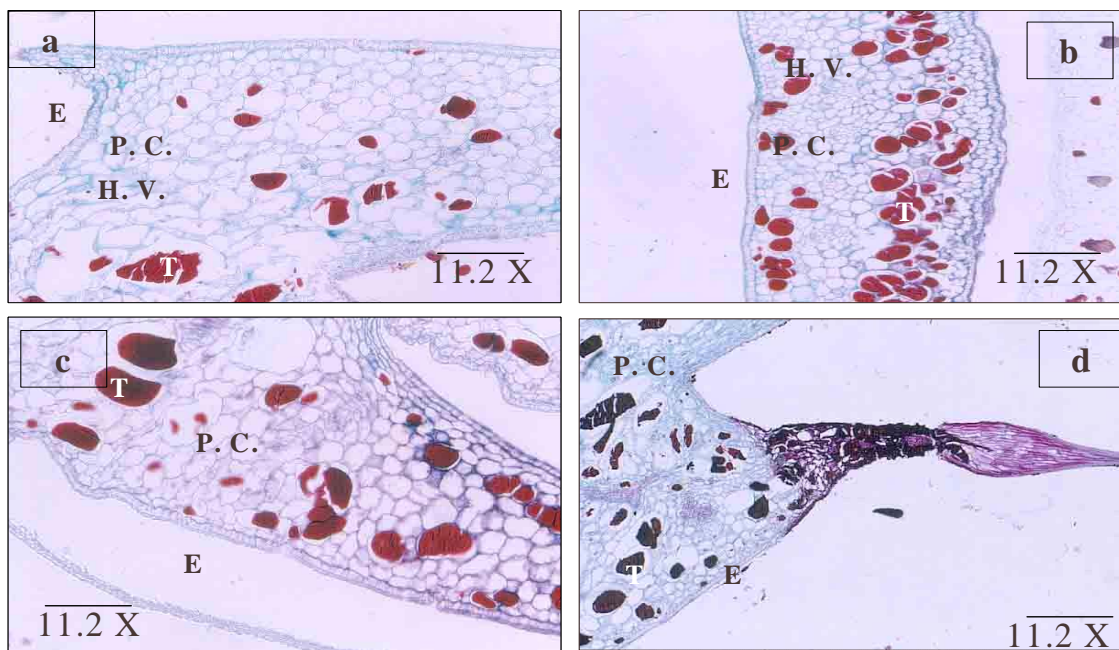
La base de la bráctea mide más o menos 1.2 cm. y tiene una epidermis externa y una epidermis interna adyacente a la pared del pericarpelo, inmediatamente por debajo de la epidermis tanto externa como interna hay una serie de estratos con células parenquimáticas en cuyo interior se depositan gran cantidad de taninos (Fig.24 c). En el centro de la bráctea existen paquetes discretos de haces vasculares.

Una vez que se lleva a cabo la fecundación, en las etapas tempranas de desarrollo del fruto se observa un arreglo ordenado de las células epidérmicas y un tamaño mediano en las células del parénquima de las brácteas con células que incluyen taninos. En las etapas 2 y 3 del desarrollo del fruto es notable la expansión de células de la zona de transición entre la base y el cuerpo de la bráctea, así como el incremento en la acumulación de taninos (Fig. 25, 26). En las últimas etapas de desarrollo se desorganiza el tejido de la epidermis, las células de parénquima pierden turgencia y se contraen y las paredes celulares se degradan, por lo que se incrementan los espacios intercelulares (Figs 25, 26.).

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

En las últimas etapas del desarrollo, rebasando la capacidad de extensión de la bráctea debida al crecimiento general del fruto, se observan fracturas en las zonas donde las células han perdido sus contenidos celulares. Las brácteas son persistentes durante todo el desarrollo a pesar de que en las últimas etapas el número de células muertas taninizadas se incrementa gradualmente. La base de la bráctea mide más o menos 1.2 cm. La epidermis externa y la epidermis interna adyacente a la pared del pericarpelo se distinguen por un mayor grosor de cutícula en la primera. Se observa mayor acumulación de taninos en las células de parénquima localizadas hacia la epidermis externa (Fig. 25). En el centro de la bráctea se observan paquetes discretos de haces vasculares.

La reducción del número de células vivas en la bráctea y las fracturas son indicadores del punto óptimo de desarrollo en el que las frutas deben ser cosechadas para garantizar su buena calidad y capacidad de conservación. El potencial de comercialización de *E.chiotilla* es elevado debido a la ausencia de espinas y a la protección que las brácteas le confieren al fruto, pues limitan la deshidratación y los daños mecánicos durante el manejo postcosecha.

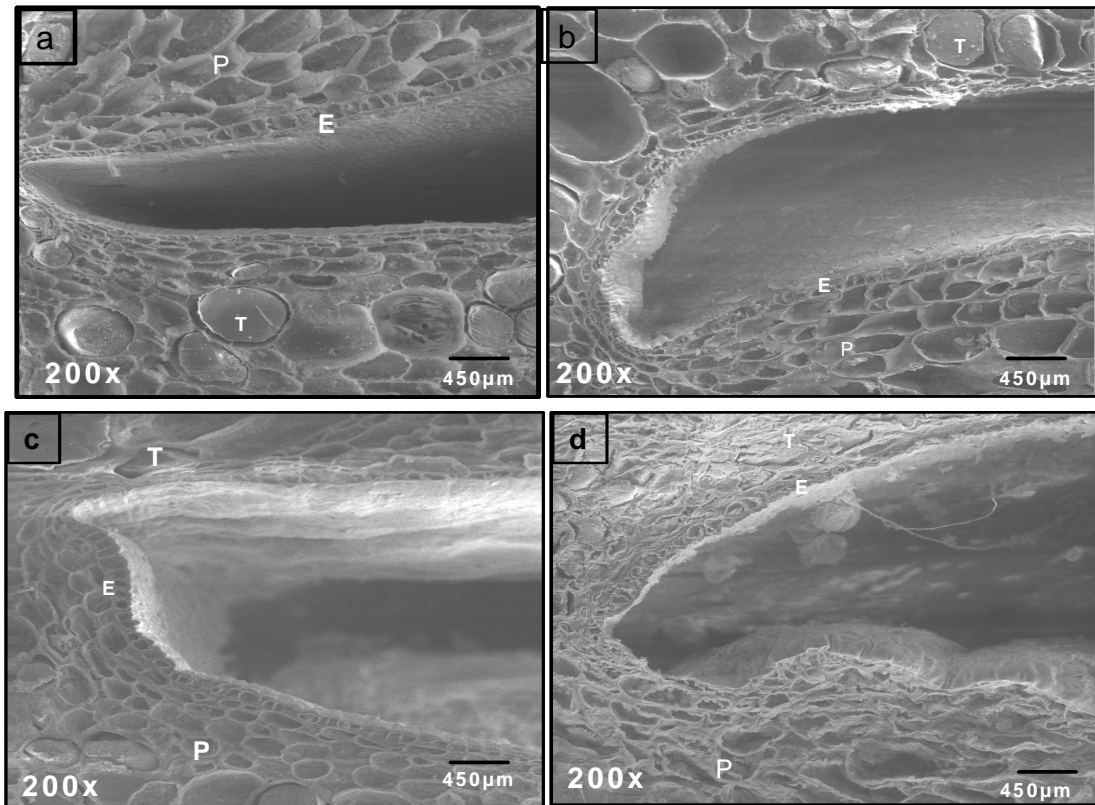


Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

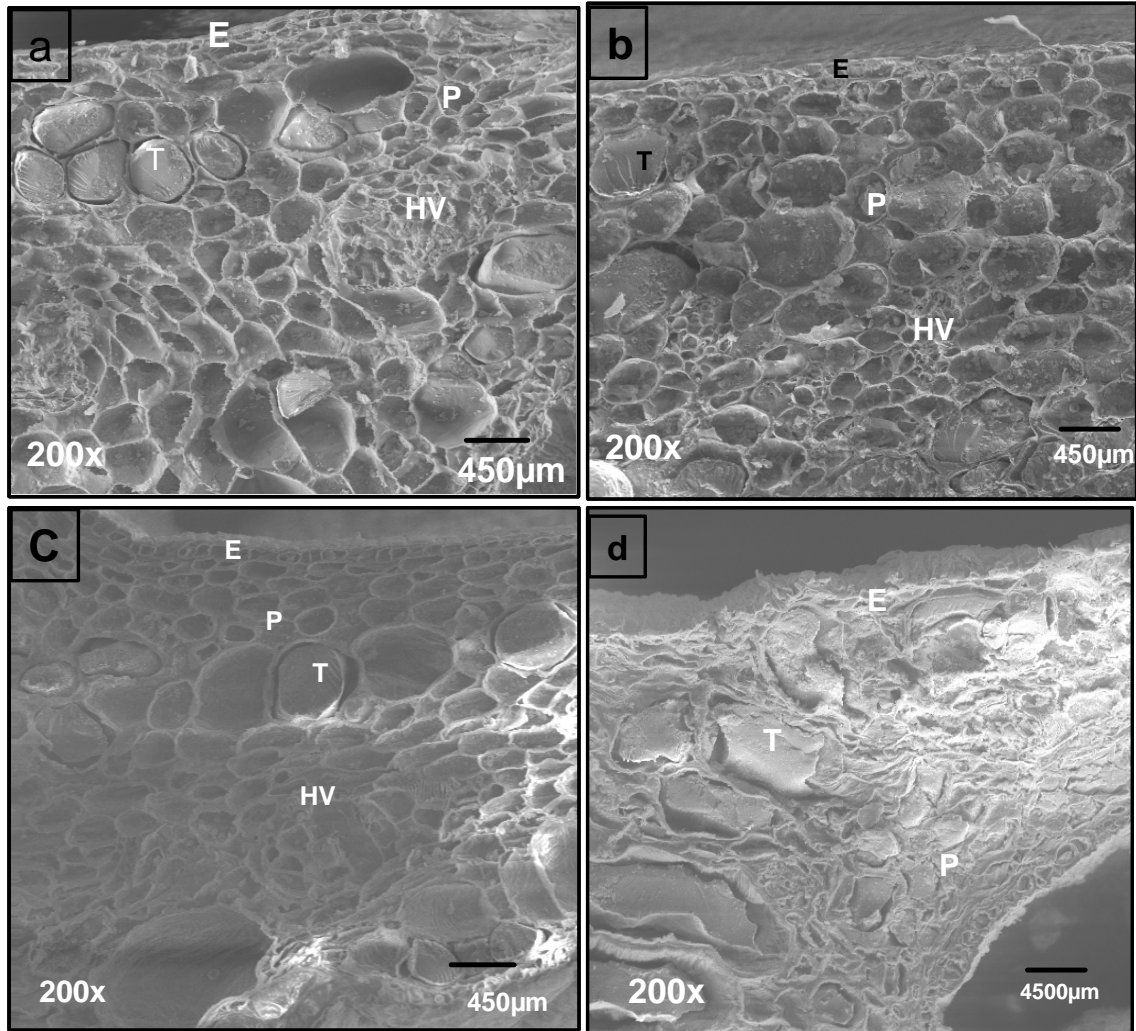
**Fig. 24. Estructura interna de la bráctea. a) Base de la bráctea flor, b) Bráctea del E2, c) Haces vasculares y taninos, d) Taninos y epidermis. Bráctea (Bra).**

**Tabla 5. Dimensiones de las brácteas de flores y frutos de *E. chiotilla*.**

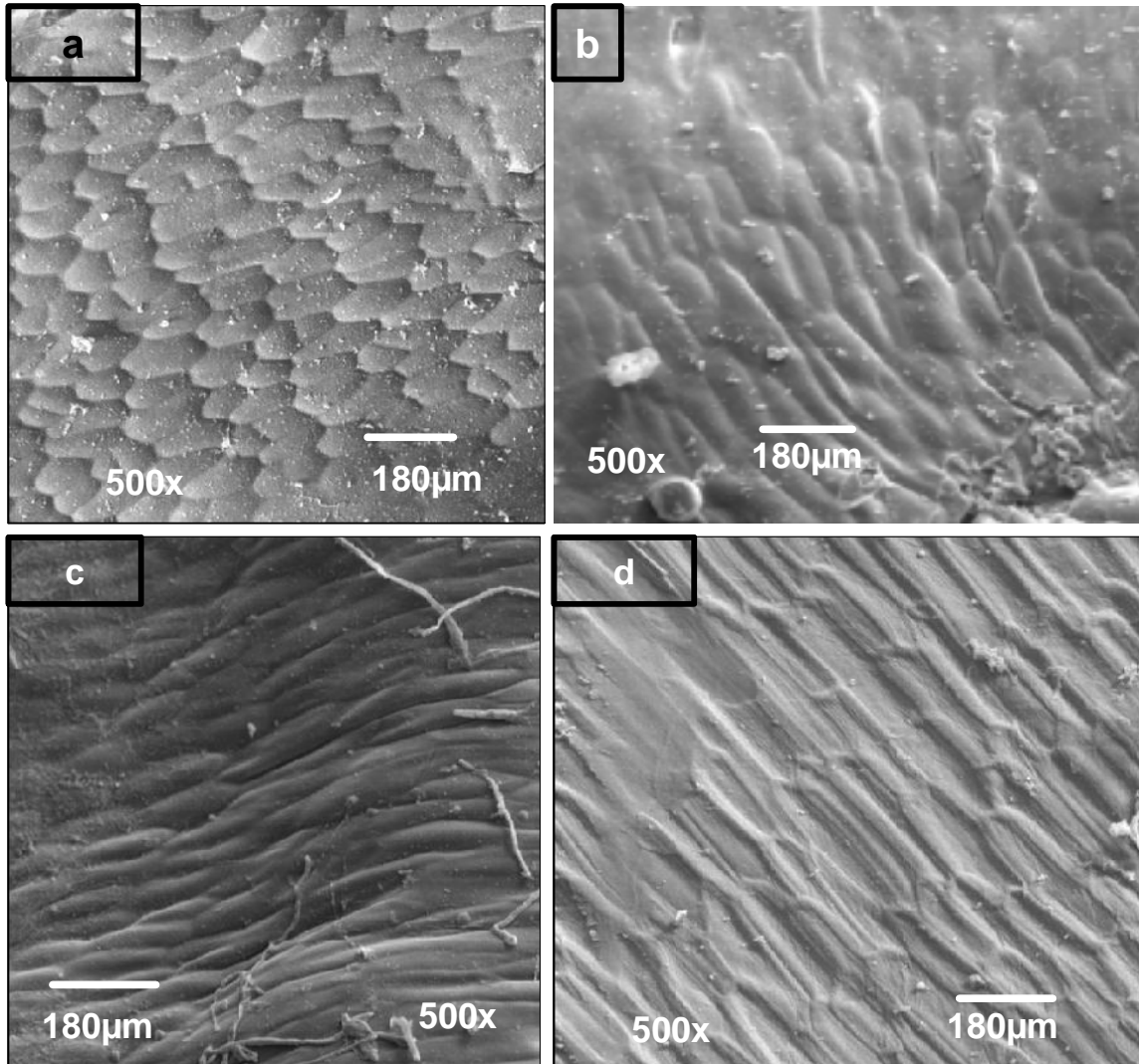
FLOR ANCHO BRACTEA	FLOR. LARGO BRAC.	E.1. ANCHO BRAC	E.1 LARGO. BRAC	E2. ANCHO. BRAC.	E2.LARGO. BRAC.	E3. ANCHO. BRACTEA	E3.LARGO. BRACTEA
1	1.2	0.9	1.1	0.9	0.8	0.9	1.1
1.1	1.3	1	1.2	0.9	1	1	1.2
1	1.1	1.1	1.2	1	1.2	1	1.2
0.9	1.2	1.1	1.3	1.1	1.3	1	1.1
1	1.3	1	1	1	1.1	1.2	1.3
1	1.2	0.9	1	1	1	1	1.1
0.9	1.1	0.9	1.1	0.9	1.1	1	1.1
0.9	1	1	1.3	0.9	1	1.1	1.2
1	1.2	1.2	1.2	1	1.2	1.1	1.3
1.2	1.3	0.8	1	1.1	1.3	1.2	1.2
PROMEDIO 1	1.19	0.99	1.14	0.98	1.1	1.05	1.18

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

**Fig.25.** Corte longitudinal de frutos en diferentes etapas de desarrollo de *E. chiotilla* (Weber) Rose de la base de la bráctea. a) 1a etapa de desarrollo, b) 2a etapa de desarrollo, c) 3a etapa de desarrollo, d) 4a etapa de desarrollo, se observan cambios en la epidermis y el contenido de taninos. Epidermis (E ), Tanino (T), Parénquima (P).

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

**Fig. 26.** Corte longitudinal de frutos en diferentes etapas de desarrollo de *E. chiotilla* (Weber) Rose del cuerpo de la bráctea. a) 1a etapa de desarrollo, b) 2a etapa de desarrollo, c) 3ª etapa de desarrollo, d) 4a etapa de desarrollo, se observan cambios en la epidermis y el contenido de taninos. Epidermis (E), Tanino (T), Parénquima (P), Haz vascular (HV).

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

**Fig. 27.** Parte externa de la base de la bráctea en la parte cercana al pericarpelo en los diferentes estados de desarrollo de *E. chiotilla* (Weber) Rose. a) Flor en anthesis, b) 1a etapa de desarrollo, c) 3a etapa de desarrollo, d) 4a etapa de desarrollo.

**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**

---

**Tabla 6. Localización de las reacciones positivas en las pruebas histoquímicas**

<b>PRUEBA</b>	<b>Flor en antesis</b>	<b>Estado 1</b>	<b>Estado 2</b>	<b>Estado 3</b>	<b>Estado 4</b>
<b>1. Lugol, almidón</b>				Semilla	Semilla
<b>2. Rojo o aceite. Lípidos</b>	Pericarpelo Semilla Bráctea	Pericarpelo Semilla Bráctea	Pericarpelo Semilla Bráctea	Pericarpelo Semilla Bráctea	Pericarpelo Semilla Bráctea
<b>3. Ácido periódico, reactivo de Schiff (PAS). Polisacáridos insolubles.</b>	No reacciono	No reacciono	No reacciono	Semilla	Semilla
<b>4. Azul mercúrico de Bromo fenol. Proteínas</b>	No reacciono	No reacciono	No reacciono	Semilla	Semilla

### **CAMBIOS MÁS RELEVANTES**

- ❖ El parénquima clorofílico engrosa sus paredes celulares primarias.
- ❖ El parénquima acuífero, en donde algunas células acumulan mucílago en vacuolas y eventualmente dan origen al aerénquima.
- ❖ Las brácteas sufren cambios significativos en su estructura, en cuanto al contenido de taninos y la muerte paulatina de células.
- ❖ La acumulación paulatina de taninos en la cubierta seminal, lo que le confiere la dureza y el color oscuro a la semilla.
- ❖ El aumento en el número de cloroplastos en las células del parénquima adyacente a la epidermis.



Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

**Comparación de algunas características histológicas observadas en *Escontria chiotilla* con *Stenocereus griseus* (pitaya) var. 'Jarra'**

*Stenocereus griseus* y *Escontria chiotilla* son especies de cactáceas con bayas comestibles consumidas en México. Con el propósito de establecer una comparación morfológica e histológica de flores y frutos de dichas especies, se tomaron muestras de estos órganos en diferentes estados de desarrollo y se realizaron preparaciones de material fresco y procesado. *E. chiotilla* se caracteriza por la presencia de brácteas y *S. griseus* por la presencia de espinas en el pericarpelo. La flor de *S. griseus* tiene pétalos rojos y *E. chiotilla* tiene pétalos amarillos. En ambas el ovario es infero y uniloculado, con numerosos óvulos campilótrofos. El desarrollo de semillas es asincrónico en *S. griseus*. La baya de *S. griseus* se distingue por la presencia de fibras entre el pericarpelo y el lóculo, las células del parénquima que forman parte de la pulpa contienen diversas proporciones de betaxantinas y betacianinas dependiendo de los tipos, a diferencia de la baya de *E. chiotilla* que es un monotipo y contiene la misma proporción de betaxantinas y betacianinas. Las semillas de color negro presentan en la cubierta seminal esclerénquima y una cutícula estriada más gruesa en *S. griseus* que en *E. chiotilla*, lo que les confiere dureza.

**Descripción de *Stenocereus griseus* Howarth (pitaya)**

El fruto es una baya que contiene varios cientos de semillas. El pericarpo resulta de la transformación del tubo floral y las paredes del ovario (pericarpelo). Externamente presenta espinas cuyo origen, desarrollo y abscisión se suceden desde la flor hasta la madurez del fruto. Se propone que el parénquima de la pulpa se origina del desarrollo y expansión de los funículos de los óvulos más las células parénquimáticas del pericarpelo. Las células de

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

parénquima sintetizan betalainas que se acumulan en las vacuolas. Las semillas presentan tegumentos delgados de color negro, debido a la presencia de taninos.

El ovario unilocular contiene gran número de óvulos campilótopos (Fig. 28). Se observa persistencia del tubo floral, después de la fecundación éste se desarrolla simultáneamente al ovario, entre ambas estructuras se presenta continuidad histológica constituyéndose un pericarpelo (cáscara). Los tejidos del fruto, al inicio del desarrollo presentan intensa multiplicación celular. La epidermis es uniestratificada con cutícula gruesa, interrumpida por areolas espinosas cuyo número y disposición permanece constante. El parénquima clorofílico presenta engrosamiento de paredes celulares y el parénquima acuífero grandes vacuolas con contenidos mucilaginosos. También se observa un parénquima de transición, a partir del cual se desarrollan fibras de colénquima. Durante el desarrollo de la semilla, se produce un engrosamiento de las paredes de las células de la cubierta seminal que sin embargo permanece más delgada que en semillas de otras Cactáceas como *Opuntia* o *Escontria*.

Un aspecto relevante es que la envoltura funicular de las semillas abortivas es capaz de desarrollar células que contribuirán a la formación de la pulpa.

En el caso de *S. griseus* (pitaya) en los frutos maduros las semillas abortivas se distinguen por su tamaño pequeño y color café claro, en contraste con las semillas normales que son de mayor tamaño y color oscuro.

Las estructuras que presentan cambios más significativos durante las etapas de desarrollo en el fruto de *S. griseus* son:

- Los funículos que dan origen a parte del lóculo.
- El tubo floral persiste después de la fecundación y forma parte del pericarpelo.
- Algunas células del parénquima clorofílico presenta engrosamiento de paredes celulares.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

- Las fibras de colénquima separan el pericarpelo (cáscara) de la pulpa.
- Las semillas presentan engrosamiento de las paredes de la cubierta seminal.

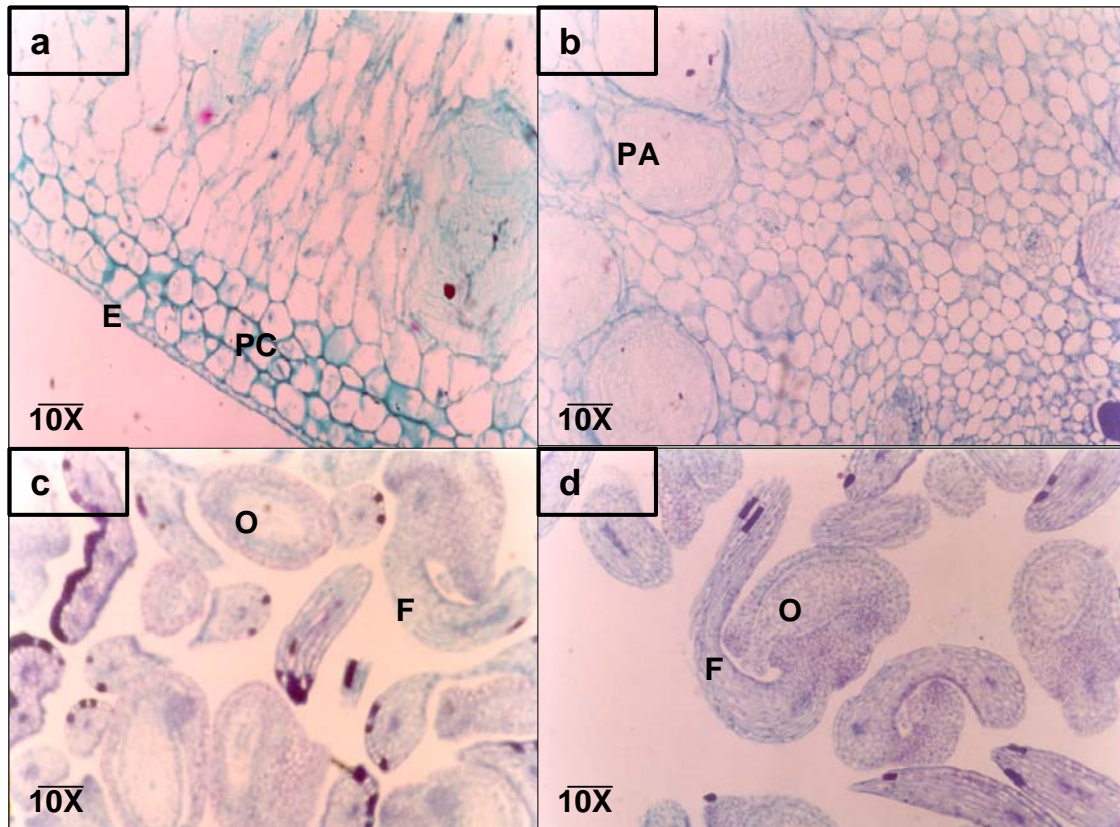


Fig. 28. Flor de *S. griseus* Howarth. a) Epidermis con parénquima clorofílico, b) Parénquima medio y parénquima acuífero, c) y d) Zona del lóculo con óvulos y funículos. Epidermis (E), Parénquima clorofílico (PC), Parénquima acuífero (PA), Óvulo (O), Funiculo (F).

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

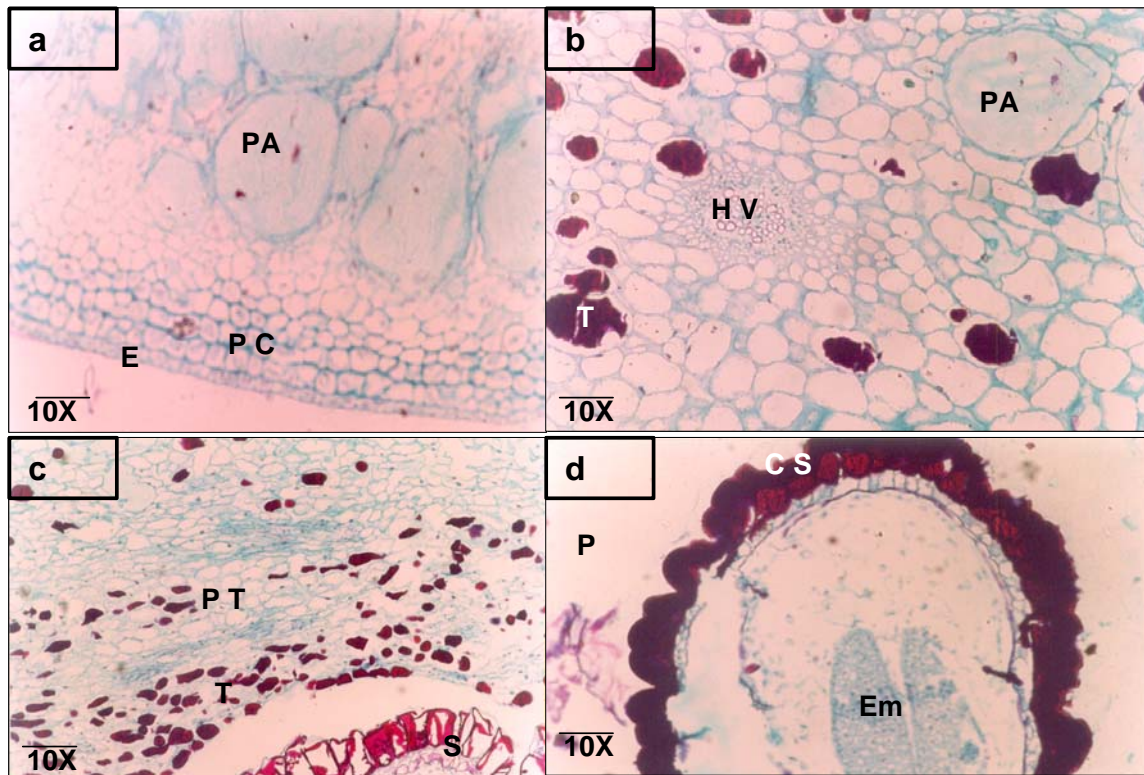


Fig. 29. Estado de desarrollo intermedio de maduración de *S. griseus* Howarth. a) Epidermis con parénquima clorofílico, b) Parénquima acuoso con haces vasculares, c) Parte cercana al lóculo, d) Zona del lóculo con semilla y embrión en torpeda. Parénquima acuífero (PA), Parénquima clorofílico (PC), Epidermis (E), Taninos (T), Haz vascular (HV), Parénquima de Transición (PT), Parénquima de la pulpa (P), Cubierta seminal (CS), Embrión (Em).



Fig.30. Óvulos campilótrópicos de *S. griseus* Howarth. a, b, c) Óvulos abortivos en diferentes estados de desarrollo. Óvulo (O), Funiculo (F), Parénquima (P).

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

## **ESTABLECIMIENTO DE UN ÍNDICE DE COSECHA BASADO EN CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS.**

**Las estructuras que permanecen constantes durante todo el desarrollo son:**

- ❖ Epidermis monoestratificada.
- ❖ Los haces vasculares.
- ❖ La cutícula gruesa.
- ❖ Taninos inmersos en células parenquimáticas.
- ❖ Drusas en la parte cercana al lóculo.
- ❖ El número de brácteas y su vascularización en la base.

Las estructuras que presentan cambios más significativos durante las etapas del desarrollo del fruto de *E. chiotilla* se indican a continuación.

En el pericarpelo los tejidos que presentan cambios relevantes son:

- ❖ Epidermis en monocapa, los núcleos de células epidérmicas se colocan cerca de las paredes periclinales en las últimas etapas.
- ❖ Acumulación progresiva de cutícula.

En el parénquima los cambios relevantes son:

- ❖ Multiplicación y expansión progresiva de las células del parénquima clorofílico. Se incrementan los cloroplastos y cromoplastos en las últimas etapas.
- ❖ Parénquima acuífero con paredes engrosadas en las primeras etapas y delgadas en las últimas etapas.
- ❖ El parénquima acuífero se transforma en aerénquima por la expansión de algunas células y la ruptura (lisis) de otras, formando así espacios intercelulares.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

- ❖ Formación del aerénquima en la parte media del parénquima, presencia de taninos en el parénquima intermedio.
- ❖ La cantidad de drusas de oxalato de calcio aumenta en las últimas etapas de desarrollo y se encuentran básicamente en las zonas cercanas al lóculo.

En la pulpa los aspectos y cambios relevantes son:

- ❖ La pulpa se origina de células papilares de la epidermis dorsal de la envoltura funicular y el funículo. La envoltura funicular constituye la mayor parte de la pulpa junto con el funículo.
- ❖ La acumulación de pigmentos en el interior de las células del parénquima de la pulpa.
- ❖ La formación de espacios intercelulares en los últimos estados de desarrollo y el adelgazamiento de las paredes celulares del parénquima de la pulpa.

En la semilla los cambios más relevantes son:

- ❖ Acumulación paulatina de taninos en la cubierta seminal de los tegumentos de la semilla.
- ❖ Reducción del endospermo en el estado Camagua.
- ❖ Desarrollo paulatino del embrión, en el estado Camagua o a partir de él no presenta cambios relevantes.

En las brácteas los aspectos y cambios relevantes son:

- ❖ Son vascularizadas y hay continuidad de la epidermis entre el pericarpelo y la bráctea.
- ❖ Presenta muerte celular mientras avanza el desarrollo.
- ❖ La acumulación paulatina de taninos en la base de la bráctea y reducción de las células parenquimáticas, formación de esclerénquima.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

**Comparación con *Stenocereus griseus***

- ❖ Los tegumentos de la semilla de *S. griseus* son más delgados.
- ❖ La acumulación de la cubierta seminal es menor en los tegumentos de *S. griseus* lo que le confiere menos dureza a la semilla y facilita la germinación.
- ❖ La presencia de fibras en *S. griseus* entre el pericarpelo y la pared del ovario facilitan la separación del pericarpelo con el parénquima de la pulpa.
- ❖ El desarrollo de los funículos es asincrónico, en *S. griseus* hay un mayor número de óvulos abortivos que desarrollan pulpa al igual que las semillas normales.

## X. DISCUSION

### Desarrollo de pericarpelo

Una característica notable en las cactáceas es el tubo floral que da lugar al pericarpelo de las frutas. Según Buxbaum (1953) en general los frutos de las cactáceas, a excepción de *Pereskia*, presentan los carpelos incluidos en la porción inferior del tubo floral (pericarpelo). La zona peduncular de dichos carpelos se desplaza hacia arriba debido a un crecimiento secundario del mencionado pericarpelo y las placentas quedan invadidas desde arriba. De esta manera los carpelos además de participar en la formación del ovario, también lo hacen en el tejido medular del eje y el cortical del pericarpelo (Bravo, 1991).

Las estructuras propias del pericarpelo de las distintas especies caracterizan la anatomía de los frutos tales como: los podarios de *Neobuxbaumia mezcalaensis*, las escamas de pitahaya, las brácteas en el caso de *Escontria chioilla* (Weber) Rose y las areolas con su producción o no de lana, cerdas y espinas en el caso de *Stenocereus griseus* Howarth.

*Pereskia aculeata* es una especie considerada primitiva (Roth 1977, Bravo 1978, De Rosa y Souza 2003) y presenta como caso excepcional en la familia un ovario súpero y un escaso número de semillas. Esta especie es un punto de referencia y comparación en la descripción anatómica de especies consideradas más evolucionadas.

En *Pereskia aculeata* el receptáculo en forma de copa se convierte en una estructura carnosa que rodea al ovario maduro como en todas las especies de *Pereskia*. Sin embargo el receptáculo y el ovario aunque están en contacto estrecho uno con el otro no presentan verdadera fusión, solamente están fusionados en la base, la pared del ovario que constituye el verdadero pericarpio es carnoso. Conforme el fruto madura el ápice del receptáculo se expande llenando todo el espacio disponible con una pulpa gelatinosa (Roth, 1977). En



**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**

estudios realizados sobre el desarrollo de fruto de *P. aculeata* se encontró que el fruto de esta especie está constituido por un hipanto (receptáculo), pericarpo y semillas (De rosa y Souza, 2003). En el caso de *E. chiotilla* se aplicaron técnicas histoquímicas para reconocer las epidermis internas que permitieran distinguir el punto de contacto o de fusión entre el pericarpio y el tubo floral, pero a diferencia de *Pereskia* la fusión histológica se presenta desde la base hasta el ápice, constituyendo el pericarpelo. Tampoco las observaciones histológicas de *Stenocereus* permitieron distinguir una cutícula interna que marcara la separación entre el tubo floral y el ovario.

Respecto al desarrollo de la pulpa, el fruto de *Opuntia robusta*, nopal tunero, tiene importantes semejanzas con el de *Stenocereus griseus*. Se origina a partir del ovario ínfero de la flor (Bravo 1978a), cuyos óvulos están dispuestos en una placentación parietal (Pimienta y Engleman 1981). Un estudio reciente sobre el desarrollo de la porción comestible del fruto (pulpa) demostró la participación de la envoltura funicular y el funículo en el desarrollo de la pulpa. En los diferentes estados de desarrollo se observa asincronía en los óvulos, incluso aquellos que son abortivos pueden presentar un desarrollo del funículo que los involucra en la formación de la pulpa. Esta observación sugiere que en frutos con una proporción mayor de semillas abortivas el lugar que sería ocupado por las semillas será ocupado por la parte comestible (Pimienta Barrios, 1990). En el caso de *E. chiotilla* no se encontraron óvulos abortivos.

En un fruto maduro de *S griseus* las semillas abortivas se distinguen por su tamaño pequeño y de color café claro, en contraste con las semillas normales que son de mayor tamaño y de color oscuro.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

Conforme se acerca la madurez del fruto las papilas de los funículos se llenan de azúcares y agua constituyendo la parte principal de la pulpa (Bravo, 1978). En tuna la extracción de jugo es posible a partir de la decimotercera semana después del amarre del fruto (Pimienta Barrios, 1990).

En *O. robusta* la envoltura funicular contribuye con 90% de la parte comestible y el funículo con el 10% (Pimienta y Engleman, 1985 citado por Pimienta Barrios, 1990). El fruto del nopal tunero ha sido descrito como una baya unilocular, polispérmica y carnosa (Bravo 1978a).

En el caso de *E. chiotilla* la pulpa es resultado de la transformación sincrónica de los funículos de los óvulos que presentan un estado fisiológico similar, los óvulos abortivos están ausentes y no participan en la formación de la pulpa. Los resultados muestran que conforme avanza el desarrollo aumenta la acumulación de drusas de oxalato de calcio, así como la acumulación de cromoplastos en *E. chiotilla* y *S. griseus* los cuales se hicieron evidentes en el estado de desarrollo de 5 a 9 semanas, aumentando en número incluso al final del desarrollo. En cuanto al parénquima que origina la pulpa, las paredes de las células durante la fase de maduración presentaron adelgazamiento paulatino debido a la síntesis de pectinasas que degradan la protopectina, constituyente de las paredes celulares, ocasionado una disminución en la firmeza de los frutos (Bidwell, 1979; Cruz, 1984; Ojeda y Barrera, 1988) y el rompimiento de las mismas libera los contenidos celulares al interior del lóculo.

### **Frutos maduros**

El proceso de maduración del fruto, una vez concluida la multiplicación y expansión celular, implica una serie de cambios físicos y químicos que determinan la textura, consistencia,

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

aroma, color y sabor propios de los frutos maduros, que los hacen aceptables para ser consumidos (Rhodes, 1980 y Calderón, 1986).

En el caso de *S. griseus* al llegar la madurez del fruto, generalmente las areolas se desprenden fácilmente y el fruto cambia de un color verde limón a verde olivo, rojizo o amarillo (Bravo, 1978; Cruz, 1984; Ojeda y Barrera, 1988). Esto pudo corroborarse al hacer los análisis de la pitaya, pero también se observó que no sólo en los frutos maduros puede ocurrir el desprendimiento de las areolas sino que también en frutos cercanos a la madurez. Podría estar involucrada en el proceso de abscisión la deshidratación de las células del pericarpelo ya que en la zona de abscisión no hay vascularización como en el caso de *E. chiotilla* que presenta una continuidad vascular que va de las brácteas al resto de los tejidos del pericarpelo.

En general poco después de la maduración los frutos de las cactáceas se caen. Sin embargo existen reportes de algunas formas de tuna que después de la maduración de los mismos pueden permanecer adheridos a la planta por más de 4 meses, sin presentar cambios importantes en la calidad (Bravo, 1978 y Peralta, 1983). Este podría ser el caso de *E. chiotilla* ya que los frutos no se desprenden fácilmente de la planta, se requiere de la aplicación de técnicas mecánicas de cosecha para el desprendimiento del fruto ya maduro.

### **Semilla**

Las semillas de los cactus presentan considerable variación en forma, tamaño y características estructurales (Barthlott y Hunt, 2000). El número de semillas producidas por fruto fluctúa de 1 hasta más de 1000 (Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yañez, 2000). Sin embargo,

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

son escasos los estudios que documentan evidencias sobre la variación en el número de semillas por fruto dentro de un taxón, en especial para especies endémicas de México (Godínez-Álvarez et al, 2003).

El tamaño de la semilla juega un papel importante en los procesos de germinación y establecimiento de las plántulas dentro de una población (Harper y Obeid, 1967; Milberg et al., 1996; Kidson y Westoby, 2000; Baloch et al., 2001). Varios estudios acerca de la germinación de semillas en especies de cactus analizan los factores que pueden influir en la germinación, tales como la luz, la temperatura, la humedad y los mecanismos de escarificación (Nolasco et al., 1997; Rojas-Aréchiga et al., 1997, 1998; Godínez-Álvarez y Valiente-Banuet, 1998; Dubrovsky, 1998; Ruedas et al., 2000). Sin embargo, son pocos los estudios que toman en cuenta el peso de la semilla (Casas et al., 1999). Loza-Cornejo (2004) encontró una correlación significativa entre el largo de la semilla y el peso de ésta en especies de Pachycereceae, sugiriendo un efecto importante de la biomasa de la semilla en el inicio de la germinación.

El ovario es el órgano que produce los óvulos llamados propiamente rudimentos seminales, es decir los primordios de las semillas. En el caso de *E. chiotilla* estas estructuras son pequeñas de aproximadamente 1 mm de longitud por 1.2 mm de diámetro, de forma arriñonada, con una pequeña protuberancia a la mitad del lado ventral, las cuales están cubiertas por la testa que consta de dos tegumentos: el interno que deja un pequeño poro llamado micrópilo y el externo que contiene células con abundantes taninos, responsables de su dureza y de su color negro, con ornamentaciones reticuladas y con una cicatriz denominada

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

hilo, que es ocasionado por el desprendimiento del funículo en la maduración del fruto (Bravo, 1978).

En el caso de *P. aculeata*, la semilla es exotestal y originada de un óvulo anfítropo, bitegumentado y crasinucleado. La semilla presenta reservas perispérmicas, que son residuos de endospermo, el embrión es curvo y posee un extenso hipocotilo-radicular largo, dos cotiledones con mesófilo homogéneo y plúmula indiferenciada (De rosa y Souza, 2003), características que comparten con *E. chiotilla* y *S. griseus* a excepción de los óvulos campilótropos que se presenta en estas últimas y el embrión es recto. El número de semillas es de 2 a 3 en el caso de *P. aculeata* (De rosa y Souza, 2003), en el caso de *S. griseus* varía de 1200 a 1800, mientras que en *E. chiotilla* es de 800 a 1400. Otra diferencia entre especies es el tamaño de las semillas *Austrocylindropuntia subulata* y *Opuntia fulgida* tienen semillas grandes (Roth, 1977), *E. chiotilla* y *S. griseus* tienen semillas pequeñas. La acumulación de taninos en el caso de *E. chiotilla* es mayor a la de *S. griseus*. El grosor de la cubierta seminal externa le confiere a las semillas de *E. chiotilla* una dureza mayor esto pudo comprobarse al momento de realizar los cortes con micrótopo del material de estudio. En pruebas de germinación se observó que las semillas de *S. griseus* germinaron mucho más rápido que las de *E. chiotilla* (Tenango, 2004), la viabilidad de semillas en ambos casos resulta elevada.

### **Bráctea**

En el caso de *Pereskia bahiensis* se desarrollan hojas en el receptáculo que permanecen vivas en el fruto maduro (Roth, 1977), las brácteas de *E. chiotilla* también permanecen vivas hasta la madurez, por lo que este carácter podría considerarse primitivo. Por otra parte, en el caso del género *Stenocereus* se considera como carácter primitivo la presencia de areolas

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

provistas de “lana” y espinas en el fruto, en tanto que en géneros mas “recientes” como en *Mammillaria*, se producen bayas en donde las areolas han desaparecido (Bravo, 1978).

La presencia de brácteas papiráceas es un atributo natural de protección, lo que podría ser considerado como un empaque natural de protección que reduce la deshidratación y reduce daños mecánicos durante el manejo postcosecha, este atributo es importante ya que la bráctea nunca se desprende del pericarpelo (cáscara) a menos que se apliquen técnicas mecánicas. La distancia que hay entre las brácteas va en aumento conforme avanza el desarrollo del pericarpelo, las células van sufriendo cambios como son la expansión y multiplicación celular en la base de la bráctea y también la acumulación paulatina de los taninos que ocasionan la muerte de tejidos, que provoca el colapso de células que va desde el exterior al interior. Considerando esta observación, cuando el fruto alcanza su máximo desarrollo (tanto la pulpa como la semilla), en el estado Camagua que ocurre a las 12 semanas de desarrollo, solo la base de la bráctea esta vascularizada, lo que ocasiona la ruptura de las células del cuerpo de la bráctea, manifestación que puede observarse externamente.

### **Índice de corte**

En la actualidad son escasos los trabajos que se refieren a características estructurales que involucran el índice de corte, específicamente en fruto (Ponce de León, et al 1998, 2003 y Nacif et al., 2001). En particular en el caso de la jiotilla y la pitaya de la región Mixteca, desde el punto de vista de tecnología postcosecha, se ha podido detectar la necesidad urgente de un índice de cosecha confiable, la cosecha se hace “a ojo” del colector y esto lleva, en muchas ocasiones, a cometer errores en la selección de la fruta cosechable. Como en ambos casos se trata de frutos no climatéricos, el cortar prematuramente los frutos implica que éstos no maduren y tengan un sabor ácido o no deseable. En el caso de las especies estudiadas, los

**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**

frutos de una misma planta maduran por separado y es posible encontrar en el mismo árbol desde primordios florales hasta frutas maduras, sin mencionar que existen todos los posibles grados de madurez. En este caso el índice de cosecha que se ha recomendado tomando en cuenta el tamaño del fruto y el color del mismo (el color púrpura es apto para consumirse) no es totalmente eficaz. Sin embargo, en algunos estudios iniciales se ha detectado que aquellos frutos que son cortados en madurez fisiológica (verdes) pueden presentar degradación de clorofila y alcanzar el color característico, sin embargo, no desarrollan siempre el sabor dulce adecuado para el consumo (Armella et al, 2000).

Aunque en cactáceas no existen trabajos que involucren características estructurales para establecer índices de corte, en *Opuntia* hay un considerable número de trabajos en histología de distintos órganos debido a su importancia comercial (Pimienta, 1999). En otras especies como *Pereskia aculeata* se han realizado estudios morfo-anatómicos del desarrollo del fruto (De rosa y Souza, 2003).

Las características estructurales que son observables solamente con el microscopio son los cambios por los que atraviesa el pericarpelo: la multiplicación y expansión celular que ocurren en las primeras semanas de desarrollo y los cambios en el parénquima como el colapso del aerénquima ocasionado por la presión ejercida por el parénquima que origina la pulpa; los cambios en el parénquima originados por el desarrollo y diferenciación de los funículos (pulpa) como son la acumulación de mucílago en las células y contenidos celulares (cromoplastos, leucoplastos, etc.); en el caso de la semilla, el desarrollo paulatino de las cubiertas seminales incluidas la acumulación de taninos y engrosamiento de las cubiertas. Alternando a este evento el embrión se desarrolla pasando por etapas que van desde embrión globular hasta la formación del embrión torpedo en su última etapa de desarrollo. En las brácteas ocurren cambios solo

**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**

detectables a nivel microscópico, éstos son la paulatina muerte celular que va desde el extremo distal hacia la base de las brácteas, en estas últimas la vascularización se mantiene aun en la etapa de maduración.

Las características estructurales que pueden considerarse observables a simple vista son el cambio de coloración del fruto, la cual no es una característica confiable ya que los frutos en un mismo estado de desarrollo varían en coloración del pericarpelo. En algunos casos hay frutos que ya han alcanzado su madurez de corte sin embargo la coloración externa no es la sugerida púrpura, al respecto se han realizado trabajos experimentales (Armella et al. 2000). El color reportado por Yáñez et al (2003) confirma que este carácter no es un indicador de corte confiable. Como tampoco resultaron buenos indicadores de corte las determinaciones de azúcares solubles ni acidez titulable. Las mediciones de parámetros físicos indicaron que el peso del fruto puede diferenciar a los estados camagua y madura o llegada, sin embargo el peso del fruto exhibe demasiada variabilidad pues se ve profundamente influenciado por factores climáticos como la temperatura, la humedad relativa y la precipitación pluvial.

Otra característica observada a simple vista es la presencia de fracturas en las brácteas de los frutos maduros. Las mediciones realizadas y las observaciones en microscopio de barrido en las brácteas de flores en anthesis hasta la maduración del fruto muestran que la máxima distensión (detectable solo en micrómetros) de la base de la bráctea ocurre en la etapa de madurez, cuando el tejido del cuerpo de la bráctea ya no se multiplica ni ocurre expansión celular. Esta característica podría considerarse de gran importancia ya que es factor externo fácilmente observable, sin embargo para considerar esta característica estructural como parte de los indicadores de corte, se requiere un estudio confirmatorio y entrenamiento de los cosechadores.



## XI. CONCLUSIÓN

Las características estructurales determinadas a partir del desarrollo que identifican al estado camagua, como el estado óptimo para la cosecha, son: suspensión de multiplicación y expansión celular, desarrollo completo de la semilla, modificaciones a nivel de la bráctea, colapso del aerénquima y desarrollo del color a partir de acumulación de cromoplastos y acumulación de pigmentos en vacuolas. Algunas de estas características se aprecian a simple vista como: colapso del aerénquima y adelgazamiento de la cáscara del fruto, incremento en el color, que puede usarse como un índice complementario, además de reducción de firmeza y fragmentación de las brácteas. La contribución de este trabajo radica en que mediante la aplicación de herramientas histológicas, se pueden realizar recomendaciones prácticas para fundamentar un índice de cosecha en *E. chiotilla* y en otras especies de cactáceas con características afines. Establecer un índice de corte confiable en frutas que no son tan conocidas como son los frutos de las cactáceas tiene importantes aplicaciones para promover la comercialización. Se debe tomar en cuenta sin embargo que los resultados obtenidos no se pueden generalizar, hay diferencias notables en los tejidos de los frutos de las diferentes especies aunque compartan algunas características de la familia.

## XII.- REFERENCIAS

1. Andrade, A. 1974. El Desierto Mexicano. Testimonios del Fondo de Cultura Económica. México. 50 p.
2. Anuario estadístico del estado de Oaxaca. INEGI. 1997
3. Arellano, E. 2001. Manejo tradicional y variación morfológica en poblaciones silvestres y manejadas de *Escontria chiotilla* (F.A.C. Weber) Rose (Cactaceae) en el Valle de Tehuacán, Puebla. Tesis de licenciatura. Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia.
4. Arias Montes, S., S. Gama López y L. Guzmán Cruz. (1997). Flora del Valle de Tehuacan-Cuicatlán. *Escontria* Rose. Fascículo 14, Cactaceae. Instituto de Biología UNAM. 82-112.
5. Arias S (1997) Distribución general. En Valles-Septién C, Rodríguez-Pérez L (Eds.) Suculentas mexicanas: Cactáceas. CONABIO-CVC. México. pp. 17-25
6. Armella V., M. A., L. Yáñez L., G. Ramírez R., J. Soriano S. y D. M. Sánchez-Díaz L. 2000 Memorias II Simposium internacional sobre la utilización y aprovechamiento de la flora silvestre de Zonas Áridas. Lugar Sede centro de las artes de la universidad de Sonora. 29 y 30 de noviembre y 1 de diciembre de 2000 Hermosillo, Sonora, México. Pp. 66-76.
7. Armella, M. A. Y L. Yáñez 1997. Recursos Naturales alternativos y la Conservación de la Biodiversidad. Pp 205-212 In: Toledo-Ocampo ed. Economía Ambiental: Lecciones de América Latina Ed. SEMARNAP-UAM 309 pp.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

8. Arreola N. 1997. Formas de vida y características morfológicas. En: Suculentas mexicanas. Cactáceas. CONABIO, SEMARNAP, UNAM Y CVS. México. 27-35p
9. Ayala-Cordero, G., Terrazas, T, López-Mata, L. y Trejo, C. Variación en el tamaño y peso de la semilla y su relación con la germinación en una población de *Stenocereus beneckeii*. INCI v.29 n.12 Caracas dic. 2004
10. Barreto V., F. & E. Hernández X. 1970 Relación suelo- vegetación en la región de Tuxtepec, Oaxaca. Inst. 63-118 pp.
11. Barthlott W, Hunt D (2000) Seeds diversity in the Cactaceae subfamily Cactoideae. Succ. Plant Res. 5: 1-173.
12. Barthlott W. Y D. R. Hunt. 1993. Cactaceae. En: Kubitzki K., Rohwer J. G. Y Bittrich V. The families and genera of vascular plants. Vol. II. Flowering Plants, Dicotyledons. Springer-Verlag. Berlin.
13. Benítez Cruz Betzabet Yazmín, 2005. Índice de corte de jiotilla (*Escontria chiotilla*). Caracterización física, contenidos de azúcares y predicción de metabolitos fermentativos. Servicio social UAM-I 25 Pp.
14. Benítez-Rodríguez, J. L. et al., (en prensa) Light effect on seed germination of 4 Mammillaria species from the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Central México. The Southwestern Naturalist.
15. Boke NH (1959) Endomorphic and ectomorphic characters in *Pelecypora* and *Encephalocarpus*. Amer. J. Bot. 46: 197-209.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

16. Bozzola J.J. & Russell L.D., 1991. Electron microscopy: principles and techniques. Jones an Bartlett Publishers, Imc. USA.560p.
17. Bravo -Hollis H. 1997. Introducción. En: Suculentas mexicanas. Cactáceas. México. CONABIO, SEMARNAP, UNAM, CVS. 10-12p.
18. Bravo -Hollis Helia. 1978. Las cactáceas de México. UNAM. Segunda Edición 1978. Pp. 538-539. México, D.F.
19. Bravo, H. H. y I. Piña-Luján. 1979. Algunos aspectos sobre la industrialización de los nopales. Cactáceas y Suculentas Mexicanas XXIV: 27-31.
20. Bravo-Hollis H. Y L. Scheinvar. 1995. El interesante mundo de las cactáceas. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y FCE. México.
21. Bravo-Hollis H. y Sánchez-Mejorada H. 1991. Las cactáceas de México. Vol III. UNAM 643 pp.
22. Bruhn, J. G. 1978. Tres hombres y una droga. Cactáceas y Suculentas Mexicanas XXIII: 27-35.
23. Careaga, A & Gerez, V. Guía turística, histórica y geográfica de México, sur I, Guerrero-Oaxaca, México, promesa, México, 1984.
24. Carmona, A.R. 2001. Variación morfológica en poblaciones silvestres, manejadas y cultivadas de *Polaskia chichipe* en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Tesis de maestría. Universidad de Colima, Colima.
25. Casas A, Caballero J, Valiente-Banuet A, Soriano JA, Dávila P (1999) Morphological variation and the process of domestication of *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) in Central México. Amer. J. Bot. 86: 534-542.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

26. Corrales García, Joel; Hernandez Silva, Juan Luis. 2005. Cambios en la calidad postcosecha de variedades de tuna con y sin semilla. Revista Fitotecnia Mexicana. 28 (1) 9-16 Jan-Mar.
27. Cruz -González, Z. Y. 2002. Caracterización morfológica y molecular de un posible híbrido de *Escontria chiotilla* y *polaskia chichipe* (Cactácea)
28. Da Rosa.M.y S e De Souza L.A. Morfo- anatomía do fruto (hipato, pericarpo e semente) em desenvolvimento de *Preskia aculeata* Millar (Cactaceae). 2003 Acta scientiarum. Biological Sciences. Maringa, v. 25 no.2, p. 415-428.
29. Dubrovsky JG (1998) Discontinuous hydration as a facultative requirement for seed germination in two cactus species of the Sonoran Desert. Bull. Torrey Bot. Club 125: 33-39.
30. Dykstra Michael J. 1992. biological electron microscopy: Theory, Techniques & Troubleshooting. 335p.
31. E. Riojas Lopez, M.; Mellink, Eric. 2005. Potential for biological conservation in man-modified semiarid habitats in northeastern Jalisco, Mexico. Biodiversity and Conservation. 14 (9): 2251-2263 AUG.
32. Flores Martínez A. 1991. Importancia de *E. chiotilla* en los valles centrales de Oaxaca. Cactáceas y Suculentas Mexicanas. N. 1. Enero-Marzo.
33. Font- Quer, P. Diccionario de Botánica. Barcelona: Editorial Labor, 1985.
34. Gibson AC (1990a) The systematics and evolution of subtribe Stenocereinae. 8. Organ pipe cactus and its closest relatives. Cact. Succ. J. (Los Angeles) 62: 13-24.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

35. Gibson AC (1990b) The systematics and evolution of subtribe Stenocereinae. 9. *Stenocereus queretaroensis* and its closest relatives. *Cact. Succ. J. (Los Angeles)* 62: 170-176.
36. Gibson AC, Nobel PS (1986) *The Cactus primer*. Harvard University Press, Cambridge, MA, EEUU. 286 pp.
37. Gibson C. A. 1990. The systematic and evolution of tribe stenocereinae. 4. *Escontria*. *Cactus and succulent journal (U. S.)*, vol. 60. 161-167.
38. Gibson, A. C., and P. S. Nobel. 1986. *The Cactus Primer*. Harvard University Press London, England. 210 p.
39. Gibson, A.C. (1990). The sistematics and evolution of Subtribe Stenocereinae. *Cactus and Succulent Jour.* 63:92-99.
40. Godínez-Álvarez H, Valverde T, Ortega-Baes P (2003) Demographic trends in the Cactaceae. *Bot. Rev.* 69: 173-203.
41. Gómez Bernal J. M, 2002. *Escontria Chiotilla* como Recursos alternativos de la Mixteca baja Oaxaqueña. Servicio social. 30 pp.
42. Gutterman, Yitzchak. 1995. Environmental factors affecting flowering and fruit development of *Opuntia Ficus-Indica* cuttings during the three weeks before planting. *Israel Journal of Plant Sciences* 43 (2): 151-157.
43. Guzmán C. 1997 Grupos taxonómicos. En: *Suculentas mexicanas. Cactáceas*. CONABIO, SEMARNAP, UNAM y CVS. M. México. D.F. 37-41p.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

44. Hamilton MW (1970b) The comparative morphology of three cylindropuntias. Amer. J. Bot. 57: 1255-1263.
45. Harper JL, Obeid M (1967) Influence of seed size and depth of sowing on the establishment and growth of varieties of fiber and oil seed flax. Crop Sci. 7: 527-532.
46. Herrera, R D. 2002. Germinación De *Escontria chiotilla* (weber) Rose y *Myrtillocactus geometrizans*(Bravo) backeberg en diferentes suelos y niveles de humedad. Tesis de licenciatura, UNAM- Iztacala.
47. Huerta, P. C. 1998. Crecimiento y análisis químico del fruto de *Escontria chiotilla* (Weber) Rose y *Stenocereus pruinosus* (Otto) Buxbaum: en Venta Salada, Puebla. Tesis de licenciatura. Facultad de Química. UNAM.
48. Johansen. D.A.1940. Plant microtechnique. New Cork: McGraw-Hill Book Company.
49. Lawrence, G. H. M. 1966. Taxonomy of vascular plants. 2 print. Mac Millan, New York.
50. Llamas, J. L. 1984. El cultivo del Pitayo en Huajuapán de León. Cactáceas y Suculentas Mexicanas XXIX: 62-65.
51. López, G.; Díaz, P.; y Flores, M.; Vegetative propagation of three species of cactaci: pitaya (*Stenocereus griseus*), tunillo (*Stenocereus stellatus*) and jitilla (*Escontria chiotilla*). Agrociencia, volumen 34, numero3, mayo-junio 2000.
52. Luna, Morales, C. 1999. Etnobotánica de la pitaya mixteca. Tesis doctoral. Colegio de posgraduados.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

53. Mandujano, P. M. 1988. Respuesta fotosintética (metabolismo ácido de las crasuláceas) en *Escontria chiotilla* (weber) Rose en ambiente controlado. Tesis de licenciatura .UNAM- Iztacala.
54. Martínez D. J. R. 1992. Efecto de la orientación en la producción de *E. chiotilla*. Cactáceas y Suculentas Mexicanas. N. 2. Abril-Junio.
55. Martínez M. D. 1987. Fluctuación fotosintética de *Escontria chiotilla* (Weber) Rose en la localidad de Venta Salada. Municipio de Coxcatlán, Puebla. Tesis de licenciatura, UNAM- Iztacala.
56. Martínez-Vázquez, O., and A. Rubluo. 1989. *In vitro* mass propagation of the near-extinct *Mammillaria san angelensis* Sánchez - Mejorada. J. Hort. Sci. 64: 99-105.
57. Méndez, L., H.; 1988. Conservación de jiotilla (*Escontria chiotilla*) por métodos combinados basados en la actividad del agua. Departamento de agroindustrias. Chapingo, México.
58. Mercado, B. A y Granados Sánchez, D. 2002. La Pitaya (Tribu *Pachycerae*) Biología, Ecología, Fisiología sistemática, Etnobotánica. Universidad Autónoma Chapingo. 194 p.
59. Meyrán J (1956) Notas sobre plántulas de cactáceas. Cact. Suc. Mex. 1: 107-112.
60. Mizrahi, Y., A. Nerd, and P. S. Nobel. 1997. Cacti as crops. *In: Horticultural Reviews*. Janick, J. (ed.). John Wiley and Sons. New York, USA. Vol. 18: 291-320.
61. Nacif S. R, Sartori Paoli A. A and Chamhum Salomão L. C. 2001. Morphological and anatomical development of the litchi fruit (*Litchi chinensis* Sonn. cv. Brewster. Fruits 56 225-233



Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

62. Nerd, Avinoam; Mizrahi, Yosef. 1998. Fruit development and ripening in yellow pitaya. *Journal of the American Society for horticultural Science* 123 (4): 560-562.
63. Nilsen, E.T. 1995. Stem photosynthesis: extent, patterns, and role in plant carbon economy. In: *Plant stems: physiology and functional morphology* (Gartner, B.L., ed.), pp. 223-240. Academic Press, San Diego.
64. Nolasco H, Vega-Villasante F, Díaz-Rondero A (1997) Seed germination of *Stenocereus thurberi* (Cactaceae) under different solar irradiation levels. *J. Arid Environ.* 36: 123-132.
65. Ortega, B. F. 2001. Demografía de la cactácea columnar *Escontria chiotilla*. Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Ciencias. UNAM.
66. Pérez, R. Y Villa, A. M., 1984. Metodología para evaluar el efecto de la cera de candelilla, TAG y Decco 31 en la conservación de pitaya de mayo (*Stenocereus pruinosus*). Reporte. Módulo Conservación e Industrialización de los Productos Agropecuarios. CBS, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco.
67. Pimentel, G. R. 1984. Caracterización de pigmento rojo de la jiotilla (*Escontria chiotilla*). Tesis de licenciatura. Facultad de Química. UNAM.
68. Pimienta B., E. 1990. El nopal tunero. Universidad de Guadalajara México.
69. Pimienta B., E. 1999. El pitayo en Jalisco y especies afines en México. Universidad de Guadalajara México. 234 pp.
70. Pimienta, B. E. y E. M. Engleman. 1981. "Estudios del desarrollo de la yema floral y el fruto en nopal". III Congreso Nacional de Fruticultura, Guadalajara, Jal., 222 p.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

71. Pimienta, B. E. y E. M. Engleman. 1985. “Desarrollo de la pulpa y proporción en volumen de los componentes del lóculo maduro en tuna (*Opuntia Picus-indica* (L. Miller)”. *Agrociencia*, 62: 51-56.
72. Pimienta-Barrios, E., and P. S. Nobel. 1994. Pitaya (*Stenocereus* spp., Cactaceae): An ancient and modern fruit crop of Mexico. *Econ. Bot.* 48: 76-83.
73. Piña, L. I. 1977. Pitayas y otras cactáceas afines del estado de Oaxaca. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas XXII*: 3-14 .
74. Ponce de León G.L. 2003. Development Physiology and Postharvest Technology of Mango . In: “Crop Management and Postharvest Handling of Horticultural Products” Dr. Dris R., Niskanen R, Mohan-Jain S. (Ed). Science Publishers Inc. USA & U.K. Chap 11. 291-328p
75. Ponce de León G.L., Sepúlveda S.J., Barbosa M.C. Histology of the peduncle of the mango’s fruit in SEM.XXV International Horticultural Congress. 2-7 agosto 1998, Bruselas, Bélgica.
76. Ramos, B. V. 1983. Utilización de pigmentos rojos de *Escontria chiotilla* como colorante en alimentos. Tesis de licenciatura. Facultad de Química, UNAM.
77. Reyes-Aguero, Juan Antonio, et al., 2005. Variación morfológica de *Opuntia* (Cactaceae) en relación con su domesticación en la altiplanicie meridional de México. *Interciencia* 30 (8): 476-484, 515 AUG.
78. Rojas -Aréchiga, M. Casas, A & Vázquez -Yañes, C. 2001. Seed germination of wild and cultivated *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) from the Tehuacán -Cuicatlán Valley, Mexico. *Journal of Arid Environments* 49: 279-287.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

79. Rojas-Aréchiga M, Orozco-Segovia A, Vázquez-Yanes C (1997) Effect of light on germination of seven species of cacti from the Zapotitlán Valley in Puebla, México. *J. Arid Environ.* 36: 571-578.
80. Rojas-Aréchiga M, Vázquez-Yanes C (2000) Cactus seed germination: a review. *J. Arid Environ.* 44: 85-104.
81. Roth, I. 1977. Fruit of angiosperms. In: Lisbauer, K. *Encyclopedia of plant anatomy.* Berlin : Gerbrüder Borntraeger, v. 10, n.1, p 106-118.
82. Roth, I. 1981. *Structural patterns of tropical barks.* *Encyclopedia of plant anatomy IX,* part 3. Gebruder Bornträger, Berlín.
83. Ruedas M, Valverde T, Castillo SA (2000) Respuesta germinativa y crecimiento de plántulas de *Mammillaria magnimamma* (Cactaceae) bajo diferentes condiciones ambientales. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 66: 25-35.
84. Rzedowski J. 1978. *Vegetación de México.* Limusa México. DF.
85. Tapia González A. Z., 2005 Índice de corte de jiotilla ( *Escontria chiotilla*) Color, Pigmentos, Sólidos solubles Totales, Acidez Titulable. Servicio Social UAMI 26p.
86. Terrazas T, Mauseth JD (2002) Stem anatomy and morphology. En Nobel PS (Ed) *The cacti: biology and uses.* California University Press. EEUU. pp. 47-60.
87. Terrazas, T. & S. Arias. 2002. Comparative stem anatomy in the subfamily Cactoideae. *Bot. Rev.* 68: 444-473.
88. Tinoco Espino A. R. Genética de poblaciones silvestres y manejadas de *E. chiotilla* en el Valle de Tehuacan, Puebla. Servicio social

**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**

89. Yacaman M. J. 1995. microscopía electrónica. una visión del microcosmos. Fondo de Cultura Económica, México. 143 p.
90. Yañez L., Domínguez J., Fajardo M. C., Díaz-de-León, F., Malpica F., Ponce-de-León L., Soriano J., Armella M. A. and Pelayo C. Maturity index of jiotilla (*Escontria chiotilla*) fruit. International Society of Horticultural Sciences. International Congress, Verona, Italia, 2004.
91. Strack. D.1997. In: Plant biochemistry. Edited by. Dey. P.M. and Harbomer. J.B. Academic Press. 554 Pp.

### XIII. GLOSARIO<sup>1</sup>

**Aerénquima:** m, parénquima con grandes espacios intercelulares aeríferos, con las células de finas membranas no suberificadas: constituye en algunos casos un tejido de tipo primario y en otros es consecuencia de la actuación de un meristemo parecido a felógeno o cambium.

**Antesis:** f. momento de abrirse el botón floral.

**Brácteas.** Término introducido en botánica llamase bráctea cualquier órgano foliáceo situado en la proximidad de las flores y distinto Por su forma, tamaño, consistencia, color, etc., de las hojas normales y de las que, transformadas, constituyen el cáliz y la corola. Así como en la axila de las hojas normales suele hallarse una yema rameal, de la axila de las brácteas acostumbra brotar una flor; en este caso se llama bráctea florífera o, más comúnmente, bráctea madre.

**Cactáceas.** Familia de dicotiledóneas arquiclamidias, que constituye el orden de las opuntiales, de flores actinomorfas y hermafroditas las numerosas piezas que constituye el perianto, pasan insensiblemente de sépalos a pétalos; el gineceo se compone de 4-8 carpelos concentrados en un ovario unilocular y con un solo estilo; los rudimentos seminales son numerosos, con placentación pariental, el fruto escarioso abayado, casi todas las cactáceas son plantas suculentas.

**Cálaza:** Base de la núclea del rudimento seminal, hasta donde llega el hacecillo vascular, que penetra en él por el funículo para ramificarse allí y dirigir sus ramificaciones a los tegumentos, los cuales arrancan precisamente de la cálaza.

---

<sup>1</sup> La mayoría de los términos botánicos incluidos en el Glosario fueron tomados de Diccionario Botánico de Font-Quer 1985.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

**Campilótopo, pa.** Dicho de un rudimento seminal, que gira encorvándose, acercándose la cálaza y el micrópilo. Dícese del rudimento seminal que <<gira encorvándose>>.

**Capa.** Término usual empleado a menudo en botánica. En sentido figurado para referirse a un conjunto de células que constituyen a modo una cubierta de algo sobre todo cuando se compone de varios estratos de la misma.

**Colénquima.** Tejido constituido por células de pared celular primaria engrosada desigualmente por lo común a base de celulosa pura, propio de órganos todavía en pleno desarrollo o que se conservan herbáceos aun en la fase adulta.

**Cubierta seminal.** Episperma. Cubierta de la semilla que proviene de los tegumentos del óvulo primordio seminal.

**Cutícula.** Película externa de la epidermis que la recubre por completo y de manera ininterrumpida, constituida por cutina. La cutícula falta en las raíces y en los órganos sumergidos de las plantas acuáticas. Película externa de la epidermis, que la recubre por completo y de manera ininterrumpida, constituida por cutina, sin celulosa alguna.

**Drusa.** En botánica conjunto redondeado de cristales incompletos dispuestos en torno a un núcleo, es común que por lo regular es un cristalito. En la célula no suele hallarse más de una drusa. Se componen generalmente de oxalato de calcio.

**Embrión.** Parte del rudimento seminal, procedente del óvulo fecundado y, por lo tanto diploide, que se encuentra diferenciado y dará lugar a una nueva planta. Font-quer: rudimento del esporófito, cuando la ovocélula, después de fecundada, ha constituido un cuerpo primordial de células diploides.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

**Endospermo.** Tejido interno de las semillas, tejido de reserva de las semillas, formado en el saco embrionario como consecuencia de la unión del núcleo secundario del mismo con un núcleo espermático procedente del tubo polínico.

**Epidermis.** Tejido adulto primario que envuelve el cuerpo de una planta y lo protege principalmente contra la pérdida de agua. La epidermis está revestida de una capa de cutina, llamada cutícula. Generalmente, se compone de un solo estrato de células, muy juntas, sin meato alguno entre ellas, de forma laminar y a menudo de contornos sinuosos en sus flancos, perfectamente trabajadas entre sí.

**Escama.** Órgano foliáceo que tiene forma y consistencia parecidas a las escamas de los peces y otros animales. Término usual con que se designa diversos tricomas de forma laminar más o menos redondeada, generalmente pluricelulares, paralelos a la epidermis de los órganos que los traen y sostenidos por un pequeño pedículo.

**Fibra.** Hebra unicelular o pluricelular cuya pared contiene lignina. En sentido práctico, también hebras unicelulares o pluricelulares que se separan de la corteza o más raramente del leño de los vegetales.

**Fruto.** Estructura originada a partir del ovario de la flor, una vez fecundados los primordios seminales y en cuya formación a veces intervienen elementos accesorios, como por ejemplo, el tálamo floral. Font-quer: según la definición clásica, es el ovario desarrollado y con las semillas ya hechas.

**Funículo.** Filamento que une los rudimentos seminales, y luego las semillas, a la placenta. Cuando los rudimentos seminales, y luego las semillas, no son sésiles, se unen a la placenta mediante un cordoncito o filamento llamado funículo.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

**Hipertrofia.** Proceso patológico, de crecimiento en que, por alcanzar las células mayor tamaño u el normal, se dilatan los tejido ocasionando la tumefacción o hinchazón del órgano afectado. Casi siempre la hipertrofia va acompañada con multiplicación celular.

**Infundibuliforme.** Dicho de una flor, que tiene forma de embudo, de forma de embudo. Aplícase a menudo a la corola, porque la mayoría de las convulvuláceas, y son muchas, la tienen de esta forma.

**Lóbulo.** Cavidad de un órgano, generalmente de un fruto, de un esporangio, de una antera, en que se contienen las semillas o esporas. Los frutos, etc., pueden ser uniloculares, con una sola cavidad o un solo lóbulo; pluriloculares, con varios, etc.

**Micrópilo.** En los rudimentos seminales, abertura que, a modo de canaliculo, dejan en el ápice de los mismos el tegumento o los tegumentos.

**Mucílago.** Los mucílagos son análogos por su composición y sus propiedades a las gomas; dan con el agua disoluciones viscosas o se hinchan en ella para formar una pseudo disolución gelatinosa. Se encuentran en las algas, en ciertos hongos, en los esfagnos y en muchos vegetales. Por oxidación dan ácido múxico y, por hidrólisis, pentosas y hexosas. Proceden de las degradaciones de la celulosa, calosa, lignina y de las materias pécticas distinguiéndose en clases diferentes según las substancias originarias.

**Ovario.** Parte basal del pistilo donde se encuentran los primordios seminales. Del lat. Ovarium, y éste de ovum, por haber comparado los rudimentos seminales a los óvulos animales), Recipiente constituido por la base de una hoja carpelar concrescente por sus bordes, o por varias hojas carpelares soldadas, por lo menos, en su parte inferior, en la que se contiene el rudimento o los rudimento seminal.



Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

**Parénquima.** Tejido fundamental, constituido por células no especializadas, provistas de membranas sutiles y no lignificadas y de grandes vacuolas. Tejido llamado también fundamental, por que es preponderante en la mayoría de los órganos vegetales, constituido por células generalmente isodiamétricas, de membranas sutiles y no lignificadas, con el protoplasma parietal y en el centro uno o varios vacúolas.

**Pericarpelo.** Parte del receptáculo de origen axial que rodea el ovario de las Cactáceas.

**Perispermo.** Tejido de reserva de origen nuclear de algunas semillas

**Saco embrionario.** En las angiospermas, estructura que se halla en el interior de la nucela y que da lugar al embrión. En angiospermas célula generalmente de gran tamaño, que se halla en el interior y corresponde o es homóloga a las macrosporas de los pteridofitos heteresporos. El extremo del saco embrionario más próximo al micrópilo está óvulo, la ovocélula y otras células adyacentes, las llamadas sinérgidas, que constituyen, entre las tres, el aparato ovular, en el extremo opuesto están otras tres células, las antípodas, y hacia el centro los dos núcleos llamados polares, pronto reunidos en uno, el núcleo secundario del saco embrionario. El saco embrionario corresponde al gametofito femenino.

**Semilla.** Embrión en estado de vida latente acompañado o no de tejido nutricio y protegido por cubiertas. Procede del rudimento seminal. En los antófitos, el embrión en estado de vida latente o amortiguada, acompañado o no de tejido nutricio y protegido por el episperma. La semilla procede del rudimento seminal, que experimenta profundas transformaciones después de fecundado el óvulo que en él se contiene; en las gimnospermas las semillas se hallan al descubierto o protegidas por diversas piezas accesorias; pero en las angiospermas se encuentran encerradas en el fruto.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

**Taninos.** Polifenoles solubles en agua que provocan la precipitación de proteínas en soluciones acuosa ( Strack, 1997).

**Tegumento.** En general todo órgano o parte orgánica que envuelve a otro y le presenta protección. Los tegumentos por antonomasia son los que protegen el rudimento seminal, las más veces dos, la primita y la secundina, cuando el rudimento es bitegumentado o diclamideo. Los tegumentos arrancan de la base de la nucela y la rodean por completo excepto por la parte apical de la misma donde deja un pequeño canaliculo, el micrópilo.

**Unilocular.** Con un solo lóculo. Font-quer: de un solo lóculo o cavidad: cápsula unilocular.

**XIV. A N E X O S**

## TECNICA PARAFINA

...Para iniciar la técnica histológica en tejidos vegetales se requiere de fijador FAA. En caso de no contar con él se deberá preparar del siguiente modo:

Preparación del fijador (FAA):

Alcohol al 70%: 90 ml.

Formaldehído al 40%: 7 ml.

Acido acético: 3 gr.

- **Fijación** en FAA en diferentes etapas de desarrollo.

- **Deshidratación y aclaramiento:**

agua 50%

alcohol etílico 40%

alcohol terbutílico 10%

agua 30%

alcohol etílico 50%

alcohol terbutílico 20%

agua 15%

alcohol etílico 50%

alcohol terbutílico 35%

**Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.**

---

---

agua 5%

alcohol etílico 40%

alcohol terbutílico 55%

alcohol etílico 25%

alcohol terbutílico 75%

Alcohol terbutílico 100%

alcohol terbutílico 100%

alcohol terbutílico 100%

Los tejidos permanecen en cada cambio un tiempo aproximado de 5 horas.

**Preparación de safranina:**

Methyl Cellosolve 50 ml.

Alcohol al 95%: 25 ml.

Agua: 25 ml.

Acetato de sodio: 1 gr.

Formaldehído al 40%: 2 ml.

Safranina: 0.1 gr.

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

**Preparación Verde rápido** (debe de prepararse con tres meses de anticipación, ya que debe madurarse):

En 100 ml. de alcohol al 90%, agregar 0.1% de solución Verde rápido.

Una vez que se haya lavado en el grupo de frascos con alcohol absoluto, se pasa a una solución especial para deshidratar.

Esta solución se obtiene de:

Aceite de Clavo: 30 ml.

Alcohol absoluto: 30 ml.

Xileno: 30 ml.

La cual tiene como función diferenciar los colorantes de tinción de las muestras.

#### TECNICAS HISTOQUIMICAS

##### LUGOL

Yoduro de Potasio	2g
Yodo	0-5 g
Agua destilada	100 ml

##### SOLUCIÓN SATURADA DE ROJO "O" DE ACEITE

Butanol	25 ml
Etilen glicol	75 ml

Rojo "O" hasta 0.1 g para saturar la solución

##### AZUL MERCÚRICO DE BROMOFENOL

HgCL <sub>2</sub> (Cloruro mercurico)	10 g
---------------------------------------	------

Identificación de cambios histológicos en frutos de *Escontria chiotilla* para fundamentar indicadores de cosecha.

Azul de bromofenol                      100 mg

Alcohol 96%. Aforar a                      100 ml

#### ÁCIDO PERIÓDICO

Ac. Periódico                                  0.6 g

Agua destilada. Aforar a                      100 ml

(requiere refrigeración)

#### SCHIFF

Fucsina básica                                0.1 g

Meta-Bisulfito de sodio                      2 g

Ac. Acético                                      2 ml

Agua destilada Aforar a                      100 ml

Disolver la fucsina con agitación constante por 2 horas en la solución ácida

Debe ser incolora; si no lo es, agregar .3 gr de carbón activado

(Requiere refrigeración)

#### AZUL NEGRO DE NAFTOL

Azul negro de naftol                            1 g

Etanol 50%                                      100 ml

Filtrar la solución

NOTA: Siempre que se vaya a filtrar una solución alcohólica se recomienda cubrir el embudo con una caja de Petri para reducir la evaporación.