

ACTIVIDAD CAMBIAL Y CRIBO-XILOGÉNESIS DE TRES ESPECIES EN UN GRADIENTE ALTITUDINAL EN LA SIERRA NEVADA, MÉXICO

CAMBIAL ACTIVITY AND PHLOEM-XYLOGENESIS OF THREE PLANT SPECIES IN AN ELEVATION GRADIENT IN THE SIERRA NEVADA, MÉXICO

MAYTE STEFANY JIMÉNEZ-NORIEGA¹, LAURO LÓPEZ-MATA¹, SILVIA AGUILAR-RODRÍGUEZ² Y TERESA TERRAZAS^{3*}

¹Posgrado de Botánica, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Estado de México, México.

²Unidad de Morfología y Función, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, Tlalnepantla, Estado de México, México.

³Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

*Autor para correspondencia: tterrazas@ib.unam.mx

Resumen

Antecedentes: Xilema y floema secundarios son derivados del cambium vascular y su dinámica (cribo-xilogénesis) se ha estudiado en coníferas y dicotiledóneas que crecen en un mismo sitio. Estudios que evalúen la cribo-xilogénesis en especies de amplia distribución altitudinal y con diferentes formas de vida son escasos.

Pregunta: ¿existen diferencias en la actividad cambial y cribo-xilogénesis entre especies con distintas formas de vida y distribución diferencial en un gradiente altitudinal?

Especies de estudio: *Alchemilla procumbens*, *Acaena elongata* y *Ribes ciliatum*.

Sitio de estudio y fechas: Cerro Tláloc, Sierra Nevada, Estado de México, México, de 2015 a 2017.

Métodos: Se recolectaron ramas durante 24 meses por especie por sitio y los tejidos se procesaron con la técnica de inclusión en metilcristalito.

Resultados: Las tres especies pueden diferenciar el floema antes que el xilema, ser simultánea en ambos tejidos (*Alchemilla*) o el floema ser no conductor antes de finalizar la xilogénesis (*Acaena*). Los periodos de actividad cambial y de cribo-xilogénesis fueron más largos (17 semanas) en *Acaena* (hemcriptófito) y *Ribes* (fanerófito), mientras que en *Alchemilla* (criptófito) fueron más cortos pero intermitentes a lo largo del año y ambos se redujeron aún más con el incremento en la altitud.

Conclusiones: La actividad cambial y la xilogénesis entre individuos de diferentes altitudes sugieren que ambos son plásticos y que responden a factores ambientales de cada sitio. En las tres especies, la cribo-xilogénesis es menos variable que la xilogénesis como se ha registrado en otras especies. La respuesta rápida de cambium vascular en *Alchemilla* sugiere que aprovecha los pulsos de factores ambientales beneficiosos para la cribo-xilogénesis.

Palabras clave: Altitud, cambium vascular, Cerro Tláloc, desarrollo de floema, desarrollo de xilema.

Abstract

Background: Secondary xylem and secondary phloem are vascular cambium derivatives and their dynamics (phloem-xylogenesis) has been studied in conifers and dicotyledons that grow in the same place. Studies that evaluate the phloem-xylogenesis in species of wide elevation gradients and with different life forms are scarce.

Question: Are there differences in cambial activity and phloem-xylogenesis between species with different life forms and differential distribution in an altitudinal gradient?

Studied species: *Alchemilla procumbens*, *Acaena elongata* and *Ribes ciliatum*.

Study site and years of study: Cerro Tláloc, Sierra Nevada, Mexico State, Mexico, from 2015 to 2017.

Methods: Branches were collected for 24 months per species per site and their tissues were processed through the methyl acrylate-embedding technique.

Results: The three species can either form phloem before xylem, form both tissues simultaneously (as in *Alchemilla*) or the phloem become non-conductive before xylogenesis ends (in *Acaena*). The periods of cambial activity and of phloem-xylogenesis were longer (17 weeks) in *Acaena* (hemipterophyte) and *Ribes* (phanerophyte); while in *Alchemilla* (cryptophyte) they were shorter but intermittent over the year and both were further reduced as altitude increases.

Conclusions: The cambial activity and xylogenesis among individuals of different altitudes suggest that both are plastic and respond to environmental factors at each site. In the three species, phloem-genesis is less variable than xylogenesis as it has been recorded in other species. The rapid response of vascular cambium in *Alchemilla* suggests that it takes advantage of the pulses of environmental factors beneficial to the phloem-xylogenesis.

Keywords: Cerro Tlaloc, elevation, phloem development, vascular cambium, xylem development.

El xilema y floema secundarios se originan del cambium vascular (CV), el cual se activa periódicamente en zonas templadas. El número de células que presentan xilema y floema secundarios depende de la división de las células cambiales y la diferenciación de sus derivadas (Begum *et al.* 2013). En diversos trabajos se ha registrado que la actividad cambial está regulada por elementos del clima como la temperatura, la precipitación y la duración del día (Oribe *et al.* 2001, Gričar *et al.* 2006, Begum *et al.* 2007, Liang *et al.* 2009), y por factores endógenos como las concentraciones de hormonas como ácido indolacético, giberelinas y ácido abscísico (Hou *et al.* 2006, Rossi *et al.* 2007) y por factores transcripcionales (De Mico *et al.* 2019). La formación y diferenciación del xilema secundario (xilema) suelen estar más relacionadas con el la temperatura y precipitación debido a los retrasos o adelantos que presentan algunas especies entre un año como respuesta a las variaciones climáticas (Rossi *et al.* 2007, Seo *et al.* 2008, Begum *et al.* 2008). Adicionalmente, se conoce para coníferas que las diferentes fases de la xilogénesis están influenciadas por diversos factores como la disponibilidad de agua para promover la fase de elongación celular o como la disponibilidad de carbohidratos durante la fase de engrosamiento de la pared celular (Cuny & Rathgeber 2016) y conocer la temporalidad de cada fase es fundamental debido a que muestran una dependencia con las condiciones ambientales e intrínsecas y esto permite entender la dinámica de acumulación de carbono desde un punto de vista multidisciplinario (De Mico *et al.* 2019).

Con respecto a la formación y diferenciación del floema secundario (floema), se ha sugerido que es más estable entre un año y otro, por lo que probablemente los factores endógenos sean los promotores de su reactivación y diferenciación (Evert 2006). La aparente estabilidad del floema limita las investigaciones para entender la dinámica de este tejido (Gričar *et al.* 2014). No obstante, se ha reportado que la formación del floema y el xilema no son simultáneos, por lo que cada tejido podría estar respondiendo de manera diferencial a diversos factores intrínsecos y ambientales (Gričar & Čufar 2008).

Estudios sobre la actividad cambial y xilogénesis se han realizado en especies de zonas alpinas y de alta montaña (Rossi *et al.* 2006a, Deslauriers *et al.* 2008), en especies de amplia distribución (Li *et al.* 2016) y en especies que crecen en sitios contrastantes (Prislan *et al.* 2013). La mayoría de los trabajos sobre la actividad cambial y xilogénesis se han cen-

trado en el estudio de árboles y arbustos (Aljaro *et al.* 1972, Deslauriers *et al.* 2008, Thibeault-Martel *et al.* 2008, Liang *et al.* 2009, Treml *et al.* 2015, Li *et al.* 2016, Dickson *et al.* 2017), pero desconocemos si se han evaluado en criptófitas. Aunado a esto, son escasos los trabajos que mencionan lo que sucede con el floema (Prislan *et al.* 2013). De aquí, se desprende la siguiente pregunta: ¿es la dinámica de la criboxilogénesis similar en especies con formas de vida distintas y distribuidas en un gradiente altitudinal? El objetivo de este trabajo fue describir y comparar la actividad cambial y la dinámica de la diferenciación del floema y xilema (criboxilogénesis) en tres especies del sotobosque con diferente forma de vida a lo largo de un gradiente altitudinal.

Materiales y métodos

Área de estudio. El cerro Tláloc (19° 23' 43" y 19° 28' 37" N, 98° 42' 51" y 98° 48' 12" O, 4,100 m snm), se encuentra en la provincia morfotectónica conocida como Faja Volcánica Transmexicana, en la región norte de la Sierra Nevada, al oriente del Estado de México, México. El clima es templado húmedo, con lluvias en verano y temperaturas promedio anuales que oscilan entre 12 y 18 °C, con una oscilación térmica de 5 a 7 °C. Los suelos son negros-pardos, grisáceos muy oscuros, profundos, ricos en materia orgánica (8.04 al 9.63 %) y de textura media (francos o franco-limosos), el potencial de hidrogeniones (pH) oscila entre 4.8 y 11.38.

Se seleccionaron seis sitios con intervalos de elevación variable, a lo largo de un gradiente altitudinal de aproximadamente 1,000 metros (Tabla 1), cuya pendiente fuera relativamente baja (< 10 %). En estos sitios se escogieron tres especies con diferentes formas de vida, siguiendo el sistema de Raunkiaer (1934); *Alchemilla procumbens* Rose (Rosaceae; criptófito), *Acaena elongata* L. (Rosaceae; hemicriptófito) y *Ribes ciliatum* Humb. & Bonpl. ex Roem. & Schult (Grossulariaceae; fanerófito). Es importante mencionar que tanto la criptófito y la hemicriptófito son perennifolias, pero sus estructuras de perennación se localizan bajo el mantillo o en el horizonte A del suelo (Jiménez-Noriega *et al.* 2017). La criptófito, *A. procumbens* es la única especie que se distribuye a lo largo de todo el gradiente altitudinal formando parte del estrato rasante en todos los sitios junto con otras especies como *Geranium seemannii* y *Lupinus montanus*. En cambio, *A. elongata* tiende a distribuirse en localidades abiertas o a plena luz y *R. ciliatum* tiene preferencias por los claros de luz

Tabla 1. Altitud, tipo de vegetación y especies a lo largo del gradiente altitudinal en el Cerro Tláloc de la Sierra Nevada, Estado de México

Altitud m s.n.m.	Tipo de vegetación	Especies
3098	Bosque de pino-encino	<i>Alchemilla procumbens</i> , <i>Acaena elongata</i> y <i>Ribes ciliatum</i>
3420	Bosque de oyamel	<i>A. procumbens</i> , <i>A. elongata</i> y <i>R. ciliatum</i>
3550	Bosque de pino	<i>A. procumbens</i> , <i>A. elongata</i> y <i>R. ciliatum</i>
3630	Bosque de pino	<i>A. procumbens</i> y <i>A. elongata</i>
3840	Bosque de pino-zacatonal alpino	<i>A. procumbens</i>
3963	Zacatonal alpino	<i>A. procumbens</i>

en el dosel. La toma de datos y el muestreo en los individuos se realizó cada mes a partir de mayo del 2015 hasta julio del 2017. Durante los muestreos, se tomaron datos adicionales relacionados con el estado fenológico de los individuos bajo estudio, la humedad de los suelos mediante el empleo de Dataloggers y el ambiente lumínico mediante la captura de fotografías hemisféricas para cada individuo seleccionado. La información detallada del ambiente lumínico y de las propiedades de los suelos por sitio se puede consultar en Jiménez-Noriega (2018). El muestreo consistió en remover dos ramas de 1 a 3 años de edad de un individuo por sitio por especie para seguir la dinámica de la cribo-xilogénesis. Las muestras se fijaron con Craff III (Ruzin 1999), en segmentos de 2 cm o 6 cm de longitud. Este fijador permite un menor endurecimiento y contracción del tejido, lo cual favorece la mejor caracterización de cambium vascular (cambium) y sus derivados. Adicionalmente, a un individuo por especie por sitio se le hizo una incisión en el tallo principal hasta cambium, con el fin de relacionar la actividad cambial a partir de la marca de crecimiento en mayo del 2015. Al final del estudio en julio del 2017, se recolectaron los individuos marcados en mayo 2015 y se fijó en FAA (Ruzin 1999) la porción del tallo con la cicatriz de la incisión, porque el xilema secundario está completamente lignificado. Estas muestras permitieron verificar el crecimiento acumulado en dos años de *A. elongata* y de *R. ciliatum*. En cambio, para *A. procumbens*, no fue posible marcar su tallo ya que estos son muy angostos (< 0.5 cm) y seguramente una incisión sobre ellos hubiera inducido su muerte.

Laboratorio. Las muestras recolectadas cada mes se lavaron con agua corriente y se cortaron con navajas desechables de micrótopo hasta tener un tamaño aproximado de 5 × 5 mm. Cada muestra se colocó en tubos Eppendorf en alcohol al 30 %, hasta completar la deshidratación en alcohol étílico absoluto y su inclusión en metilcristalato (Technovit7100, Kulzer, Wehrheim, Alemania) de acuerdo a Zarlavsky (2014). Se realizaron cortes transversales con un grosor de 0.5 a 1 µm para *A. procumbens* y de 2 a 3 µm para *A. elongata* y *R. ciliatum* con un micrótopo rotatorio (Leica 2051, Westlar, Alemania). La tinción se hizo con violeta de cresilo al 0.1 % en agua destilada por máximo 30 segundos, se lavaron y montaron con resina sintética (Hycel, Monterrey, México). Los tallos colectados al final de las observaciones se lavaron con agua corriente, se dividieron a través de la médula y se pasaron a glicerina-alcohol-agua (1:1:1), donde permanecieron hasta su ablandamiento. Se realizaron cortes transversales con un micrótopo de deslizamiento (Leica 2000R, Westlar, Alemania), de un grosor de 18-20 µm; posteriormente se tiñeron con safranina y verde rápido (Ruzin 1999) y se montaron en resina sintética. Estos cortes permitieron confirmar la presencia de anillos verdaderos o falsos. Las preparaciones para describir y comparar la dinámica de la actividad cambial y la cribo-xilogénesis se revisaron con un microscopio fotónico Olympus BX51 (Tokio, Japón) con y sin polarizador. El uso del polarizador permitió claramente definir cuando las fibras ya habían finalizado su maduración. Las preparaciones para detectar las marcas de crecimiento únicamente se observaron

sin polarización. Los tejidos se fotografiaron con una cámara infinitum adaptada al microscopio Olympus BX51.

La terminología que se utilizó para describir la actividad cambial y la dinámica de diferenciación y maduración del xilema y floema fue propuesta por Esau (1977) e Iqbal (1990). Actualmente el uso de tinciones como el violeta de cresilo y los estudios detallados del floema, permiten reconocer cada fase en la dinámica de la diferenciación del xilema y floema con mayor precisión (Deslauriers *et al.* 2003, Rossi *et al.* 2006b, Gričar & Čufar 2008). En el Apéndice 1 se sintetizan las fases empleadas para describir las observaciones de la cribo-xilogénesis. En este trabajo cuando el cambium se reactivó se identificaron diferentes fases en la dinámica del xilema y se describe como se encontraba el floema. (1) Inicio: comienza la división y la diferenciación del xilema; en este momento el floema puede ser conductor. (2) Máximo: se observa el mayor número de células de xilema diferenciándose, el floema continúa siendo conductor. (3) Final: se termina de lignificar el último estrato de fibras del xilema y se delimita el crecimiento de ese año; el floema puede mantenerse conductor o no, ya que puede encontrarse colapsado o con abundante calosa.

Resultados

Formación del xilema y floema en las tres especies. La dinámica de xilema y floema se puede agrupar en tres categorías (Figura 1). La primera consiste en la diferenciación del floema antes de la del xilema, presente en las tres especies aquí estudiadas (Figura 1A). La segunda, también perceptible en las tres especies, fue la diferenciación del xilema y floema simultáneamente (Figura 1B). En la tercera, el xilema y floema se diferencian simultáneamente, pero al final de la diferenciación del xilema, el floema deja de ser conductor antes que el xilema (Figura 1C). Ésta solo fue observada en algunos individuos de *Acaena elongata* (*Acaena*) y *Alchemilla procumbens* (*Alchemilla*) (Figura 2F). Estas tres variantes se presentan en uno o más sitios donde se encuentran las especies a lo largo del gradiente.

Formación del xilema y floema por especie. Al inicio de la actividad cambial se observaron, en la zona cambial de dos a tres estratos de células turgentes en *Alchemilla* y de cuatro a seis en *Acaena* y *Ribes ciliatum* (*Ribes*); mientras el floema estaba turgente y conductor (Figuras 2A, 3A, 4A). En *Acaena* y *Ribes*, hay varias divisiones en la zona cambial, antes de que fueran perceptibles las primeras células diferenciadas del xilema o el floema (Figuras 3B, 4B), hasta que ya no se distinga la separación entre ambos tejidos (Figura 3C). En *Alchemilla* fueron notorios de 3 a 4 estratos de células en división (ZC; Figura 2B, C). En ocasiones, como se observó en las tres especies, la diferenciación del floema sucedió antes que la del xilema (Figura 2B), o la diferenciación del xilema y el floema ocurrieron simultáneamente (Figuras 3C, 4B), o bien, la diferenciación fue simultánea pero el floema aún no era conductor (Figura 3I).

Las diferentes fases en la dinámica del floema no fueron perceptibles, como en la dinámica del xilema, donde se

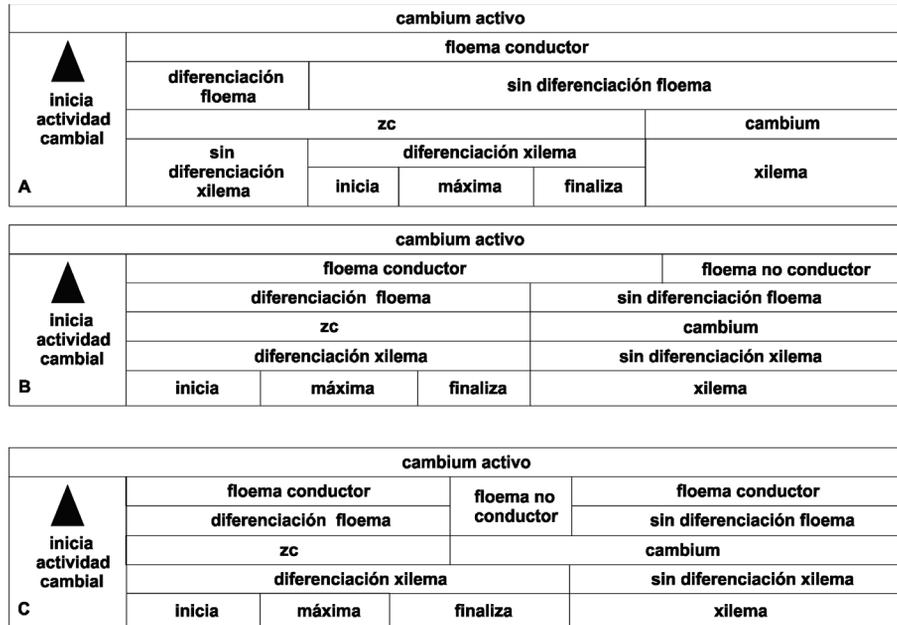


Figura 1. Esquema que ilustra tres variantes de la cribogénesis y xilogénesis cuando el cambium vascular se encuentra activo. A) diferenciación del floema antes de la del xilema; B) diferenciación simultánea del xilema y floema; C) diferenciación simultánea del xilema y floema, cesa la conducción del floema cuando finaliza la xilogénesis. zc = zona cambial.

observó claramente el inicio de la diferenciación, el punto máximo de división celular hasta la maduración del último estrato del xilema (Figuras 2C-E, 3C-F, 4C-G). Se observaron en *Acaena* y *Ribes* varios estratos (> 3) de células diferenciadas en su fase máxima; mientras que en *Alchemilla* solo fueron perceptibles dos estratos de células de xilema (XD; Figura 2D, E). En la fase final de la maduración del xilema, *Alchemilla* presentó la formación máxima de 2 a 3 estratos celulares de xilema y de 1 a 3 de floema, mientras que *Acaena* se registraron de 5-7 estratos hacia xilema y de 3-4 hacia el floema. Para *Ribes* el número máximo de estratos fue 6-8 hacia xilema y de 2-3 hacia floema.

En ocasiones, cuando finalizó la maduración del xilema, el floema continuaba siendo conductor en las tres especies (Figuras 2F, G, 3F-H, 4G). Se distinguió el floema conductor, debido a que la placa cribosa y áreas cribosas se encontraban libres de calosa (Figuras 5A, C, D, F, G). Posteriormente, los tubos cribosos presentaron acumulación de calosa (el floema no es conductor); durante este proceso, las células del parénquima floemático se llenan de contenidos oscuros (taninos) en las tres especies, además con cristales en *Ribes*; por último los tubos cribosos se colapsan (Figuras 2H, 3I, 4I) y fue evidente la presencia de calosa en las áreas cribosas (Figura 5B, E, H, I); en esta etapa el cambium entra en reposo (pierde turgencia).

Dinámica de xilema y floema en el gradiente altitudinal. El inicio de la actividad del cambium tiende a desplazarse en el tiempo, conforme se incrementa la altitud en las tres especies (Figuras 6-8). La duración de la actividad cambial fue mayor

en *Acaena* y *Ribes* (Figuras 7, 8) alcanzando hasta diez meses en comparación con *Alchemilla* (Figura 6) con un máximo de seis meses. La xilogénesis duró más tiempo en *Acaena* (Figura 7); mientras que en *Ribes* ocurrió en un mes (junio/julio, a una altitud de 3,098 m s.n.m.), siendo la fase conductora de xilema y floema la que mayor duración tuvo en el tiempo en que el cambium estuvo activo (Figura 8).

La diferenciación simultánea del xilema y floema se observó tanto en *Alchemilla* en los sitios de mayor altitud (3,630 a 3,953 m) como en *Acaena*, en diversos momentos a lo largo de año en el gradiente altitudinal (Figuras 6, 7). Este comportamiento en la dinámica de xilema y floema, también se registró en *Ribes*, pero solo en mayo, junio y julio en los extremos de su distribución en el gradiente (3,098 y 3,550 m; Figura 8). Sin embargo, en *Ribes* predomina la formación del floema antes que la diferenciación del xilema (Figura 8). En *Alchemilla* y *Acaena* también se observó la diferenciación del floema antes que el xilema (Figuras 6, 7), pero en *Alchemilla* solo en los sitios de menor altitud (< 3,550 m). En algunos individuos el floema se colapsa antes de terminar de lignificarse el xilema y al siguiente mes el floema vuelve a ser conductor; esto solo fue perceptible en *Acaena* y *Alchemilla* (Figuras 6, 7), excepto en los sitios 3,420 y 3,630 m en *Alchemilla*. En *Ribes* tanto el floema como el xilema dejaban de ser conductores simultáneamente lo que marca el inicio de la inactividad cambial (Figura 8).

Marcas de crecimiento. En todos los sitios a lo largo del gradiente para *Acaena* y *Ribes*, los anillos de crecimiento se distinguen por la porosidad anular (Figura 9A, B). Se puede

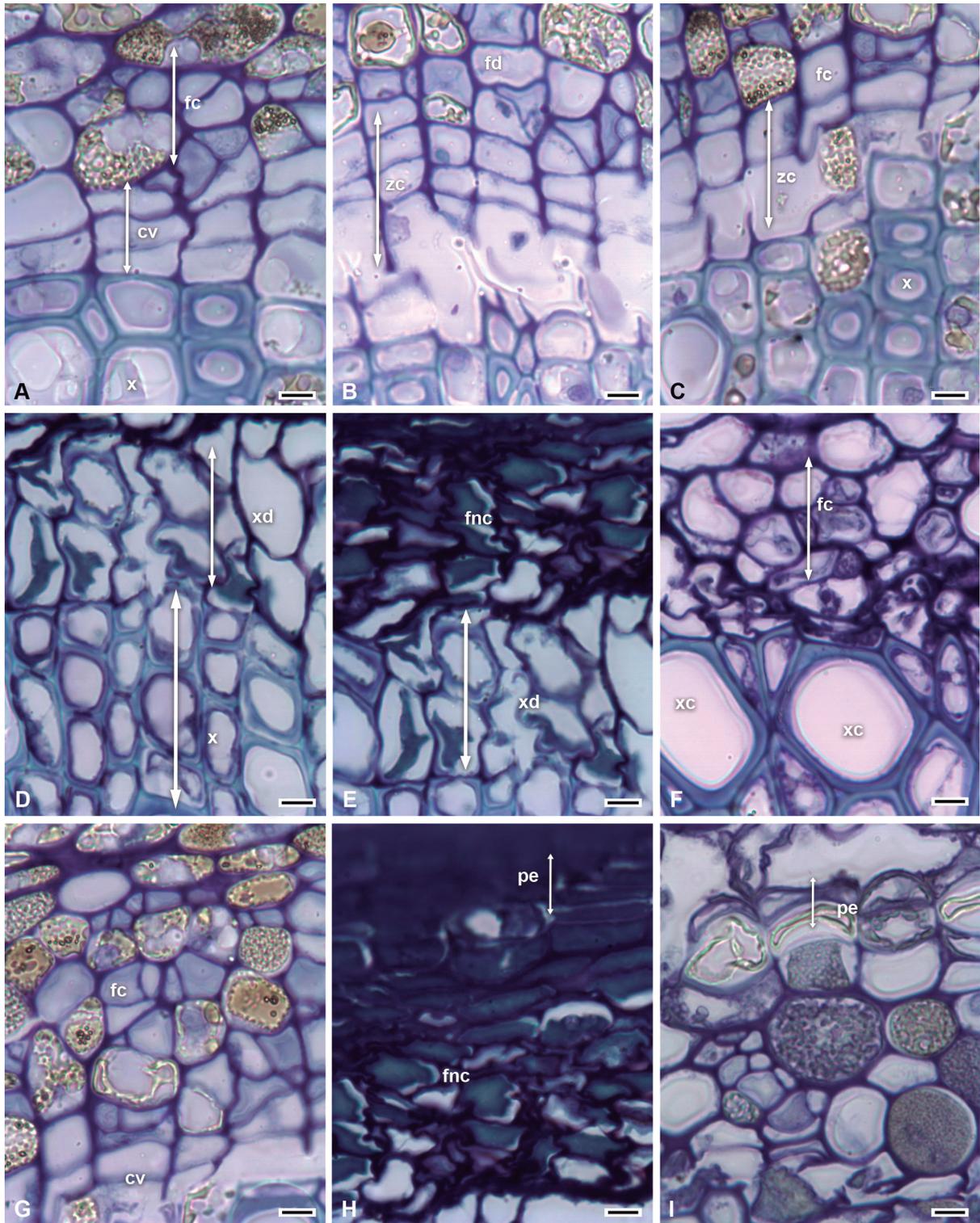


Figura 2. Cribo-xilogénesis en *Alchemilla procumbens*, cortes transversales. A) inicia actividad cambial; B) división en la zona cambial, diferenciación de floema antes que xilema; C) floema conductor, sin diferenciación del xilema; D) diferenciación de xilema, paredes delgadas; E) Diferenciación de xilema y floema no conductor; F) xilema y floema conductores; G) floema conductor; H) floema no conductor; I) inicia divisiones en la peridermis. cv = cambium vascular fc = floema conductor, fd = floema diferenciado, fnc = floema no conductor, pe = peridermis, x = xilema, xc = xilema conductor, xd = xilema diferenciado, zc = zona cambial. Barra es 5 μ m.

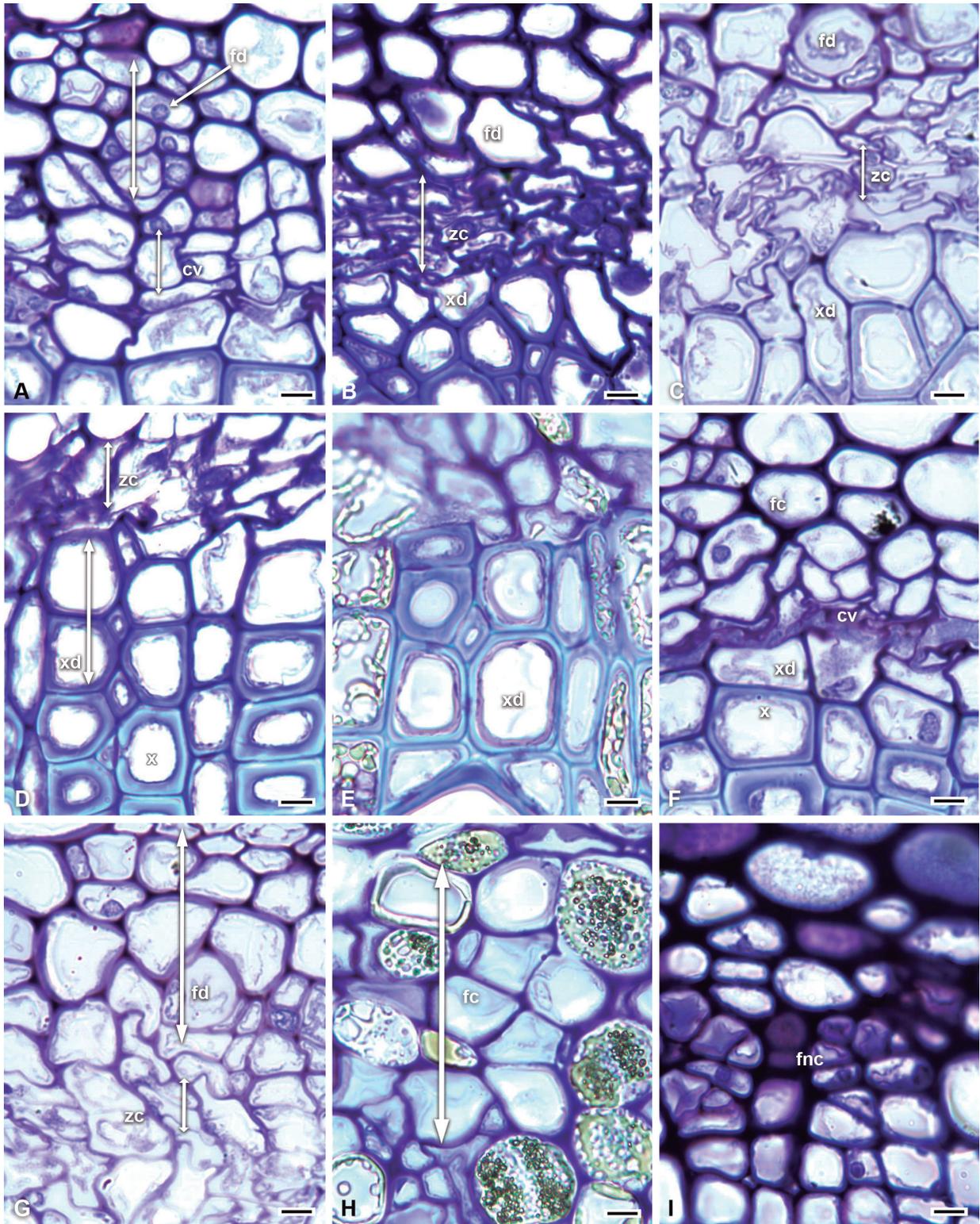


Figura 3. Cribogénesis y xilogénesis en *Acaena elongata*, cortes transversales. A) inicia actividad cambial; B, C) división en zona cambial, la diferenciación simultánea del xilema y floema; D, E) diferenciación de xilema; F) último estrato de células de xilema en diferenciarse y floema conductor; G) diferenciación de floema; H) floema conductor; I) floema no conductor. cv = cambium vascular, fc = floema conductor, fd = floema diferenciado, fnc = floema no conductor, x = xilema, xd = xilema diferenciado, zc = zona cambial. Barra es 5 µm.

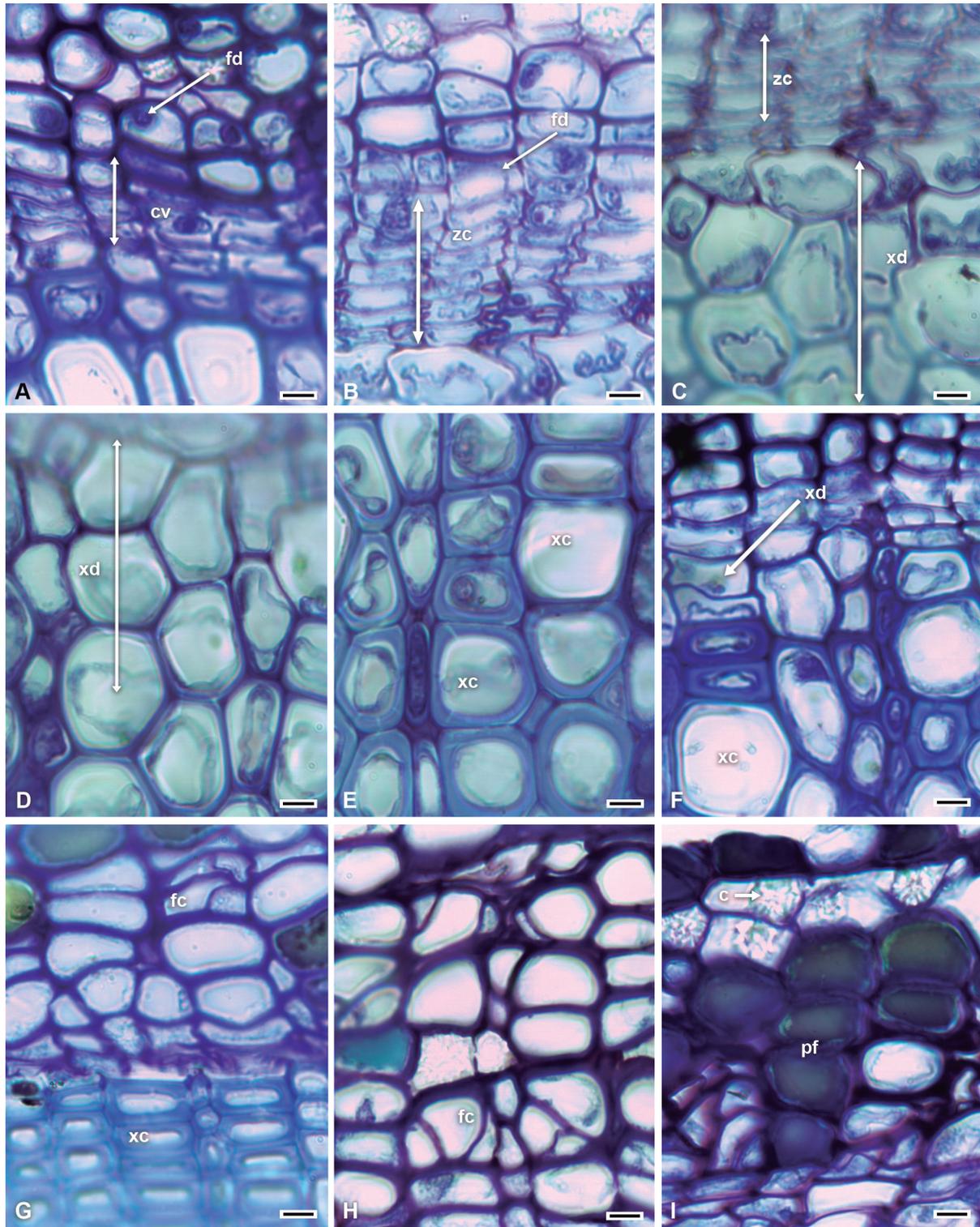


Figura 4. Criboxigénesis y xilogénesis en *Ribes ciliatum*, cortes transversales. A) inicia actividad cambium; B) división de la zona cambial y diferenciación de floema; C-D) diferenciación de xilema; F) último estrato de células de xilema en diferenciarse; G) xilema y floema conductores; H) floema conductor; I) parénquima floemático con contenidos y cristales y floema no conductor. c = cristal, cv = cambium vascular, fc = floema conductor, fd = floema diferenciado, pf = parénquima floemático, xc = xilema conductor, xd = xilema diferenciado, zc = zona cambial. Barra es 5 µm.



Figura 5. Características de las placas cribosas de los tubos cribosos, cortes radiales. A-C) *Alchemilla procumbens*; D-F) *Acaena elongata*; G-I) *Ribes ciliatum*; A, C, D, F, G) placas cribosas sin calosa; B, E, H, I) placas cribosas con calosa. flechas blancas = placa cribosa, flechas negras = placa cribosa con calosa, pe = peridermis, xc = xilema conductor. Barra es 5 μ m.

Cribo-xilogénesis de tres especies en un gradiente altitudinal



Figura 6. Diagrama que ilustra la xilogénesis y cribogénesis en *Alchemilla procumbens* a lo largo de un gradiente altitudinal. Floema en diferenciación = azul; floema conductor = amarillo; floema no conductor = rectángulo; inicia actividad cambial = triángulo negro; cambium inactivo = línea punteada negra; xilema desde inicio de la diferenciación hasta terminar la lignificación de las fibras = verde.

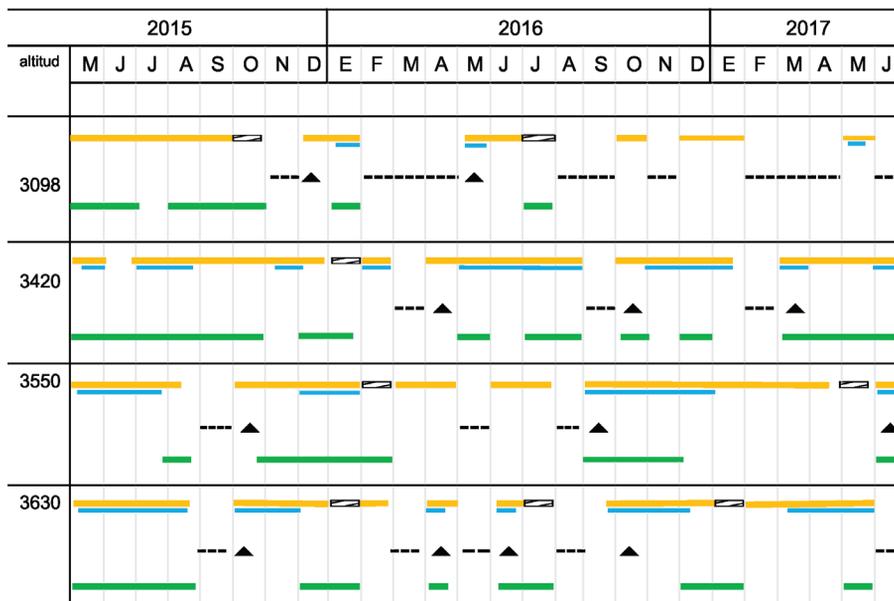


Figura 7. Diagrama que ilustra la xilogénesis y cribogénesis en *Acaena elongata* a lo largo de un gradiente altitudinal. Floema en diferenciación = azul; floema conductor = amarillo; floema no conductor = rectángulo; inicia actividad cambial = triángulo negro; cambium inactivo = línea punteada negra; xilema desde inicio de la diferenciación hasta terminar la lignificación de las fibras = verde.

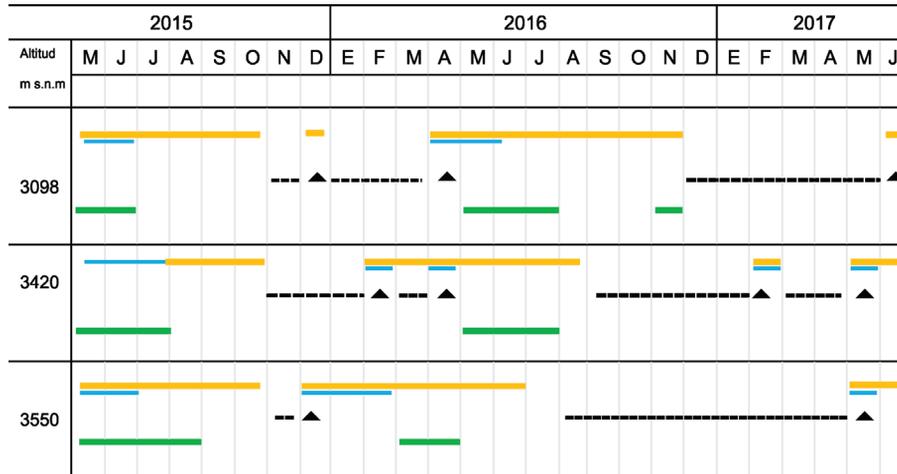


Figura 8. Diagrama que ilustra la xilogénesis y cribogénesis en *Ribes ciliatum* a lo largo de un gradiente altitudinal. Floema en diferenciación = azul; floema conductor = amarillo; floema no conductor = rectángulo; inicia actividad cambial = triángulo negro; cambium inactivo = línea punteada negra; xilema desde inicio de la diferenciación hasta terminar la lignificación de las fibras = verde.

notar por la marca al inicio de los muestreos en mayo de 2015 (asterisco), que la xilogénesis ya había comenzado y los vasos de la madera temprana eran funcionales. En julio de 2017 cuando se colectaron los individuos, en algunos de ellos se comenzaba a distinguir la xilogénesis (formación de vasos madera temprana); en otros únicamente se distinguía el inicio de la cribogénesis. Debido al reducido diámetro de los tallos (< 0.5 cm) de los individuos de *Alchemilla*, como se mencionó en Material y métodos, no se pudieron marcar. En esta especie es difícil reconocer las marcas de crecimiento (Figura 9C-F) y cuando son distinguibles, hay un máximo de dos o tres.

Discusión

El estudio de la actividad cambial y la cribo-xilogénesis en especies del sotobosque en el gradiente reveló que las tres especies tienen un comportamiento diferencial entre sitios, tanto en el tiempo de actividad cambial como en las primeras células en diferenciarse, pero similar dentro de cada uno sitio. Aquí se describe por primera vez la cribo-xilogénesis para una criptófita (*Alchemilla*), cuyos tallos horizontales van bajo el mantillo o el horizonte más superficial de los suelos. Un hallazgo importante es que *Alchemilla* se distingue por presentar periodos cortos (< 4 meses) e intermitentes de cribo-xilogénesis a lo largo del año, posiblemente asociados con su forma de vida. Mientras que *Ribes* (fanerofita), ostenta una cribo-xilogénesis sincrónica con la caducidad de sus hojas, similar a otras especies arbustivas o arbóreas. En cambio, *Acaena* exhibe una cribo-xilogénesis más larga que *Ribes* y *Alchemilla*, se distribuye en áreas abiertas o relativamente abiertas como los bosques de pino o en los claros de luz en los bosques de oyamel. Esta hemcriptófita es perennifolia, se ramifica copiosamente y se reproduce sexual y profusamente sin interrupción a lo largo del gradiente y del año.

Actividad cambial. Los individuos de *Alchemilla*, *Acaena* y *Ribes* no presentaron sincronización en la formación de xilema y floema a través del gradiente altitudinal, sino que la actividad de cambium varió entre los sitios. Nuestros resultados coinciden con lo registrado para individuos de *Picea abies* y de *Cedrus libani* provenientes de diferentes sitios (Gričar *et al.* 2015; Güney *et al.* 2015). Asimismo, las características anatómicas se conservan en la mayoría de los individuos de cada especie localizadas en el mismo sitio, es decir, presentan su propia dinámica en la actividad cambial y en la cribo-xilogénesis. Ávila *et al.* (1975) registraron resultados similares trabajando con diferentes géneros de arbustos. Estos autores observaron que las especies que ocurrían en un mismo sitio y que compartían características similares, tenían también actividad cambial durante el mismo período. En el caso de *Ribes*, en los tres sitios donde ocurre, su cambium permanece inactivo cuando pierde sus hojas en septiembre o antes. Sin embargo, puede haber cribogénesis sin xilogénesis cuando aparecen las hojas de invierno, durante noviembre-diciembre, las cuales mantiene hasta el inicio de la estación lluviosa en mayo-junio.

Cuando el cambium se encuentra inactivo, el floema no es conductor y sus paredes se observan de mayor grosor y adquieren un tono nacarado. En *Alchemilla* y *Acaena*, en sitios de menor altitud, el floema se observó completamente colapsado solamente de uno a dos meses. Esto sugiere que el fin del ciclo del floema conductor se genera meses antes de la diferenciación celular del xilema.

Patrones en la diferenciación del xilema y floema en las tres especies. En *Alchemilla*, *Acaena* y *Ribes* el floema se diferenció antes que el xilema, durante la reactivación del cambium independientemente del sitio de distribución en el gradiente, como se ha registrado en otras especies (Wilson 1966, Alfieri & Evert 1968, Oribe *et al.* 2003, Swidrak *et al.*

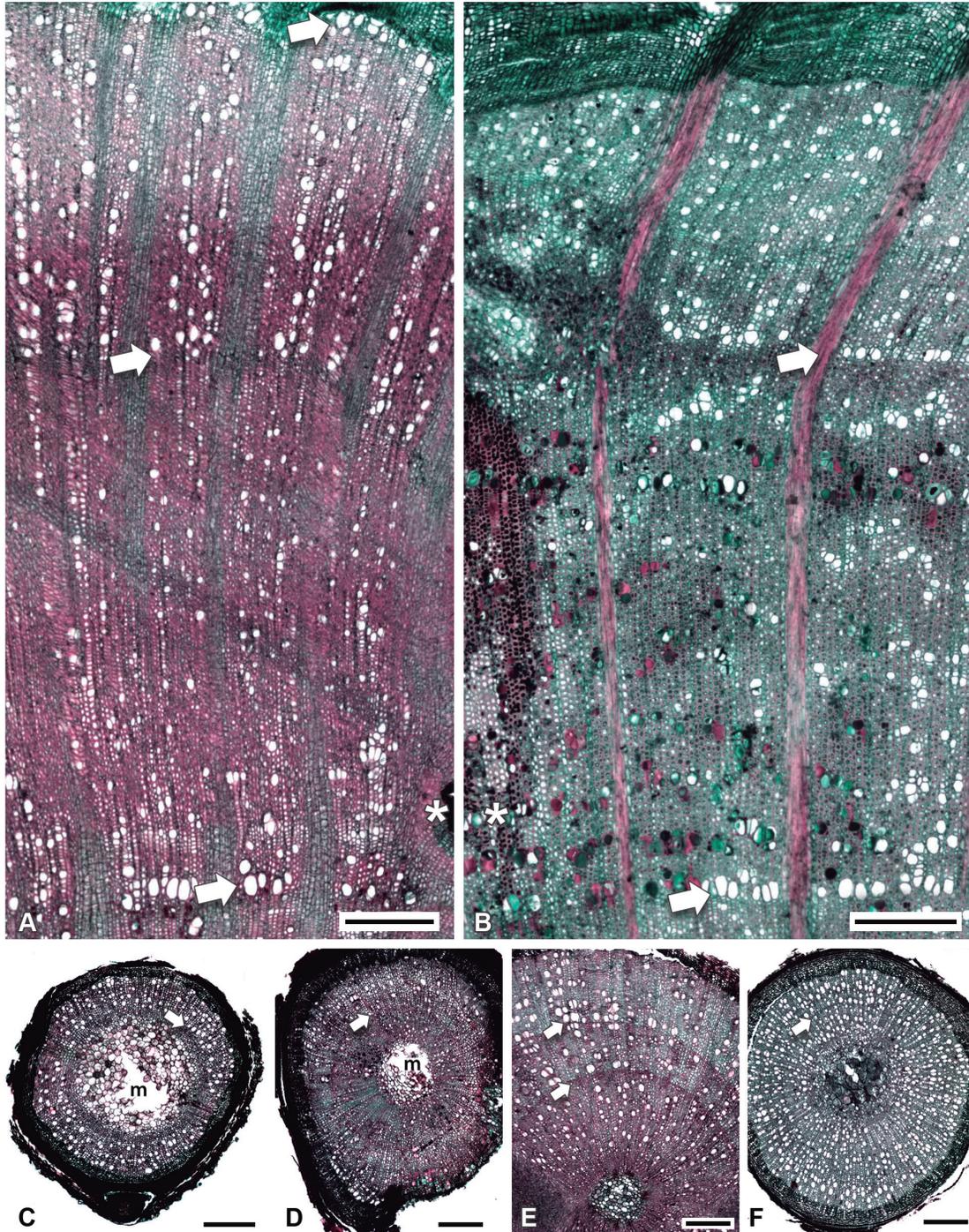


Figura 9. Madera con marcas de crecimiento de *Acaena* y *Ribes* y tallos completos de *Alchemilla* a lo largo del gradiente, cortes transversales. A) *Acaena elongata*, 3,550 m; *Ribes ciliatum*, 3,098 m; C-F) *Alchemilla procumbens*; C) 3,630 m; D) 3,550 m; E) 3,953; m; F) 3,240. Flechas = marcas de crecimiento, * = región de la marca, m = médula, Barra es 300 µm.

2014). El floema conductor se requiere para la formación, diferenciación y maduración del xilema, ya que el xilema requiere de la energía producida por los fotoasimilados que se translocan a través de los elementos de tubo criboso y

sus células acompañantes (Evert 2006, Taiz & Zeiger 2010). Sin embargo, en diferentes momentos algunos individuos en las tres especies mostraron diferenciación simultánea del xilema y floema. Solo en *Alchemilla* y *Acaena*, al final de la

diferenciación del xilema, el floema se encontró colapsado, aunque al siguiente mes el floema nuevamente era conductor; probablemente el floema se diferencia rápidamente para que la actividad cambial continúe y el CV solo esté inactivo durante algunos días. Esta aseveración deberá confirmarse con muestreos semanales que permitan registrar con mayor precisión la cribogénesis de ambas especies, en especial *Alchemilla*, que por su forma de vida dura menos de un mes en varios periodos a lo largo del año.

Conductividad del floema en el gradiente. Este aspecto se ha estudiado para especies arbóreas de climas fríos, para las cuales se describe un periodo largo e ininterrumpido de floema conductor seguido por uno periodo corto de diferenciación floemática; para finalmente dejar de ser conductor y sus tubos cribosos se colapsan (Antonova & Stasova 2006, Gričar *et al.* 2006, 2007, Gričar & Čufar 2008). Esto se observó en *Acaena* y *Ribes*, especies que tuvieron largos periodos (cuatro meses en promedio) de floema conductor. Alfieri & Evert (1968) señalan que, en coníferas, los periodos de conductividad largos y periodos diferenciación cortos, se deben a que las células del floema pueden tener una duración de 1 a 2 años, formándose en primavera y manteniéndose funcionales en invierno, hasta la formación de nuevas células en primavera. Sin embargo, durante el periodo de registro de la dinámica de floema en *Acaena* la diferenciación de floema también presentó un periodo largo de actividad. Esto podría explicarse debido a que *Acaena* presenta varios periodos de actividad cambial, a lo largo del año. En contraste, en los sitios de menor altitud ($\leq 3,550$ m), *Alchemilla* presentó periodos cortos, intermitentes y constantes de conductividad en el floema y reduciéndose, aún más en individuos localizados en cotas altitudinales más elevadas ($> 3,630$ m). Este hecho sugiere que el patrón observado en *Alchemilla*, está asociado con la permanencia de hojas a lo largo del año, en especial durante los meses de enero-marzo cuando se presentan las hojas de invierno o nuevos brotes (Jiménez-Noriega 2018). En otras especies se ha registrado que la formación de nuevas derivadas en el CV se relaciona con los periodos de crecimiento vegetativo y la formación de brotes y ramas nuevas (Alfieri & Evert 1968, Golinowski 1971, Kutscha *et al.* 1975). En *Alchemilla*, esto podría corresponder a un mayor crecimiento vegetativo a menores altitudes durante los meses de mayo a septiembre (Jiménez-Noriega 2018). La formación de nuevas células requiere de una gran cantidad de energía, y en condiciones microambientales asociadas a elevadas cotas altitudinales, las plantas priorizan procesos como la respiración, formación de hojas, crecimiento de la raíz y la reproducción (Oribe *et al.* 2003, Polák *et al.* 2006, Deslauriers *et al.* 2009), como sería el caso de *Alchemilla* (Jiménez-Noriega “datos no publicados”).

Formación del xilema y floema por especie. En *Acaena* y *Ribes* se observó un mayor número de estratos de células diferenciadas hacia xilema que hacia floema, asociado a su forma de vida. Este patrón también se ha reportado otros grupos taxonómicos (Gričar *et al.* 2009); por ejemplo, en *Schizolobium parahyba* el máximo número de estratos ce-

lulares de floema fue de 4 a 6, mientras que para el xilema fueron de 15 a 33 (Marcati *et al.* 2008). El número de estratos que se forman hacia ambos lados de la zona cambial, parece estar relacionado con la tasa de crecimiento y forma de vida de las especies (Iqbal 1990). En contraste, *Alchemilla* presentó un número similar de estratos celulares de xilema y floema, mientras que el CV estuvo activo. Aunque en los sitios de menor altitud ($\leq 3,550$ m), la duración del periodo de diferenciación de las células del floema fue mayor que el periodo de diferenciación del xilema, por lo que probablemente la diferenciación y conductividad del floema se prioriza a la formación de xilema. Además, en *Alchemilla* el floema no se acumuló como en otras especies arbóreas, ya que se aprecia la formación de la nueva peridermis en el floema no conductor, cuando hay xilogénesis y cuando CV está inactivo (Figura 2H, I). Estas observaciones sugieren que hay formación de más de una peridermis por año, pero ésta se desprende y no hay ritidoma, eliminando también en este proceso floema no conductor. Aunado a esto, fueron pocos los individuos de *Alchemilla* con hasta tres anillos de crecimiento, en su mayoría tienen uno o dos anillos. Por lo que se podría inferir que la baja acumulación de tejido conductor está relacionada con la baja longevidad de las ramas horizontales. A pesar de que los tallos colectados de esta especie fueron conductores durante el tiempo que duraron las observaciones, pueden no tener anillos perceptibles, lo cual podría estar asociado a su continua actividad cambial en algunos sitios a lo largo del gradiente.

En los tallos de *Acaena* y *Ribes* se observó mayor acumulación de estratos tanto de xilema como de floema. Ambas especies acumulan tejido conductor semejante a lo observado en otras especies de arbustos (Aljaro *et al.* 1972, Li *et al.* 2016) y árboles (Larson 1994, Plomion *et al.* 2001, Thibeault-Martel *et al.* 2008, Gričar *et al.* 2014), en los cuales se correlaciona una mayor acumulación de tejido xilemático y floemático con largos periodos de actividad cambial (Gričar *et al.* 2009, Gričar *et al.* 2014). En *Ribes*, a altitudes de 3,420 y 3,550 m y durante el segundo año de observaciones, el CV presentó un largo periodo de 10 meses de inactividad asociado a la ausencia de lluvias previos a los meses de junio de 2017 (Jiménez-Noriega, obs. pers.).

La variabilidad en la reactivación cambial y la dinámica del xilema entre los individuos localizados a diferentes altitudes hacen inferir que el CV y el xilema son muy plásticos y altamente sensibles a los factores ambientales de cada sitio. Aunque la diferenciación del floema presentó algunas variaciones entre un año de registro y otro, en algunos sitios la dinámica del floema no exhibió cambios exclusivos asociados a cada altitud, sino que fue más estable, por lo que podría depender de otros factores, incluidos los endógenos. En contraste, la dinámica del xilema sí mostró cambios asociados exclusivamente con la altitud.

La dinámica del xilema y floema en *Acaena* y *Ribes* coincide con lo reportado para otras especies arbóreas y arbustivas, relacionada con la formación y conductividad del floema antes que la del xilema. Sin embargo, resulta interesante observar que esta tendencia se limita a ciertos sitios

o periodos a lo largo del año en ambas especies, ya que se observaron periodos en los que xilema y floema se diferenciaron simultáneamente, mientras CV se encontró activo. En *Ribes* la actividad cambial y la cribo-xilogénesis presentan periodicidad, como en otros árboles que se encuentran restringidos a una localidad o dos. Posiblemente la periodicidad y tiempo de respuesta del CV limita la presencia de esta especie en el gradiente, en donde solo llega hasta los 3,550 m s.n.m. Por su parte, la criptofita, *Alchemilla*, mostró poca periodicidad en la actividad cambial y diferenciación del xilema y floema a través del tiempo y el espacio. Esta especie responde a las variaciones del ambiente a lo largo del gradiente, siendo la respuesta en cuanto a la amplitud de cribo-xilogénesis a altitudes intermedias del gradiente, justo dentro del bosque de oyamel a los 3,420 m s.n.m. Esta respuesta a niveles intermedios de altitud a lo largo del mismo gradiente fue reportada también para hoja (reducción del mesofilo) de *Alchemilla* por Jiménez-Noriega *et al.* (2017). Además, los cortos periodos de actividad cambial en *Alchemilla* en comparación con las otras dos especies, podría indicar que es una especie que aprovecha los pulsos en los que los factores ambientales son más beneficiosos para la producción de nuevas células de xilema y floema y por ello pueden o no marcarse los anillos de crecimiento. Es evidente que para llegar a hacer generalizaciones similares a las encontradas en *Alchemilla*, es necesario contar con un mayor número de estudios de especies criptófitas.

Agradecimientos

La primera autora agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el otorgamiento de la beca de doctorado MSNJ (265120). Al Posgrado en Botánica del Colegio de Postgraduados, al Laboratorio de Botánica Estructural del Instituto de Biología y al pueblo de Tequesquihuac y Ejidos adyacentes por su apoyo para la realización de este trabajo. A Julio César Montero-Rojas le agradecemos su apoyo y ayuda en el diseño y mejora substancial de las figuras. Agradecemos a dos revisores anónimos por sus comentarios críticos y sugerencias atinadas para mejorar el manuscrito original.

Literatura citada

- Alfieri FJ, Evert RF. 1968. Seasonal development of secondary phloem in *Pinus*. *American Journal of Botany* **55**: 518-528. DOI: <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1968.tb07407.x>
- Aljaro ME, Ávila G, Hoffman A, Kummerow J. 1972. The annual rhythm of cambial activity in two Woody species of the Chilean "matorral". *American Journal of Botany* **59**: 879-885. DOI: <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1972.tb10163.x>
- Antonova GF, Stasova VV. 2006. Seasonal development of phloem in Scots pine stems. *Russian Journal of Developmental Biology* **37**: 306-320. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1062360406050043>
- Ávila G, Aljaro ME, Araya S, Montenegro G, Kummerow J. 1975. The seasonal cambium activity of Chilean and Californian shrubs. *American Journal of Botany* **62**: 473-478. DOI: <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1975.tb14072.x>
- Begum S, Nakaba S, Oribe Y, Kubo T, Funada R. 2007. Induction of cambial reactivation by localized heating in a deciduous hardwood hybrid poplar (*Populus sieboldii* × *P. grandidentata*). *Annals of Botany* **100**: 439-44. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcm130>
- Begum S, Nakaba S, Yamagishi Y, Oribe Y, Funada R. 2013. Regulation of cambial activity in relation to environmental conditions: understanding the role of temperature in wood formation of trees. *Physiologia Plantarum* **147**: 46-54. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2012.01663.x>
- Begum S, Nakaba S, Bayramzadeh V, Oribe Y, Kubo T, Funada R. 2008. Temperature responses of cambial reactivation and xylem differentiation in hybrid poplar (*Populus sieboldii* × *P. grandidentata*) under natural conditions. *Tree Physiology* **28**: 1813-1819. DOI: <https://doi.org/10.1093/treephys/28.12.1813>
- Cuny H, Rathgeber CBK. 2016. Xylogenesis: coniferous trees of temperate forests are listening to the climate tale during the growing season but only remember the last words! *Plant Physiology* **171**: 306-317. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.16.00037>
- De Mico V, Carrer M, Rathgeber CBK, Camarero JJ, Voltas J, Cherubini, Battipaglia G. 2019. From xylogenesis to tree rings: Wood traits to investigate tree response to environmental changes. *IAWA Journal* **40**: 155-182. DOI: <https://doi.org/10.1163/22941932-40190246>
- Deslauriers A, Morin H, Begin Y. 2003. Cellular phenology of annual ring formation of *Abies balsamea* in the Quebec boreal forest (Canada). *Canadian Journal of Forest Research* **33**: 190-200. DOI: <https://doi.org/10.1139/x02-178>
- Deslauriers A, Rossi S, Anfodillo T, Saracino A. 2008. Cambial phenology, wood formation and temperature thresholds in two contrasting years at high altitude in Southern Italy. *Tree Physiology* **28**: 863-871. DOI: <https://doi.org/10.1093/treephys/28.6.863>
- Deslauriers A, Giovannelli A, Rossi S, Castro G, Fragnelli G, Traversi L. 2009. Intra annual cambial activity and carbon availability in stem of poplar. *Tree Physiology* **29**: 1223-1235. DOI: <https://doi.org/10.1093/treephys/tpp061>
- Dickson A, Nanayakkara B, Sellier D, Meason D, Donaldson L, Brownlie R. 2017. Fluorescence imaging of cambial zone to study wood formation in *Pinus radiata* D. Don. *Trees* **31**: 479-490. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00468-016-1469-3>
- Esau K. 1977. *Anatomy of seed plants*. New York: John Wiley y Sons. ISBN-10: 0471245208; ISBN-13: 978-0471245209
- Evert RF. 2006. *Esau's plant anatomy meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development*. New Jersey: John Wiley y Sons. ISBN-10: 0471738433; ISBN-13: 978-0471738435
- Golinowski WO. 1971. The anatomical structure of the common fir (*Abies alba* Mill.) Bark. 1. Development of bark tissues. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* **40**: 149-181. DOI: <https://doi.org/10.5586/asbp.1971.010>
- Gričar J, Čufar K. 2008. Seasonal dynamics of phloem and xylem formation in silver fir and norway spruce as affected

- by drought. *Russian Journal of Plant Physiology* **55**: 538-543. DOI: <https://doi.org/10.1134/S102144370804016X>
- Gričar J, Krže L, Čufar K. 2009. Number of cells in xylem, phloem and dormant cambium in silver fir (*Abies alba*), in trees of different vitality. *IAWA Journal* **30**: 121-133. DOI: <https://doi.org/10.1163/22941932-90000208>
- Gričar J, Zupančič M, Čufar K, Oven P. 2007. Regular cambial activity and xylem and phloem formation in locally heated and cooled stem portions of Norway spruce. *Wood Science and Technology* **41**: 463-475. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00226-006-0109-2>
- Gričar J, Prislán P, Gryc V, Vavrčík H, De Luis M, Čufar K. 2014. Plastic and locally phenology in cambial seasonality and production of xylem and phloem cells in *Picea abies* from temperate environments. *Tree Physiology* **34**: 869-881. DOI: <https://doi.org/10.1093/treephys/tpu026>
- Gričar J, Zupančič M, Čufar K, Koch G, Schmitt U, Oven P. 2006. Effect of local heating and cooling on cambial activity and cell differentiation in the stem of Norway spruce (*Picea abies*). *Annals of Botany* **97**: 943-951. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcl050>
- Gričar J, Prislán P, De Luis M, Gryc V, Hacurova J, Vavrčík H, Čufar K. 2015. Plasticity in variation of xylem and phloem cell characteristics of Norway spruce under different local conditions. *Frontiers in Plant Science* **6**: 730. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00730>
- Güney A, Kerr D, Sökücü A, Zimmermann R, Küppers M. 2015. Cambial activity and xylogenesis in stems of *Cedrus libani* A. Rich at different altitudes. *Botanical Studies* **56**: 20. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40529-015-0100-z>
- Hou HW, Zhou YT, Mwange KN, Li WF, He XQ, Cui KM. 2006. ABPI expression regulated by IAA and ABA is associated with the cambium periodicity in *Eucommia ulmoides* Oliv. *Journal of Experimental Botany* **57**: 3857-3867. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/erl150>
- Iqbal M. 1990. *The vascular cambium*. New York: John Wiley y Sons. ISBN-10: 0471926477; ISBN-13: 978-0471926474
- Jiménez-Noriega MS. 2018. Fenología, actividad cambial y aspectos fisiológicos de tres especies a lo largo de una gradiente altitudinal en el norte de la Sierra Nevada, México. PhD Thesis. Colegio de Postgraduados. México.
- Jiménez-Noriega MS, Terrazas T, López-Mata L, Sánchez-González A, Vibrans H. 2017. Anatomical variation of five plant species along an elevation gradient in Mexico City basin within the Trans-Mexican Volcanic Belt, Mexico. *Journal of Mountain Forest* **14**: 2182-2199. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11629-017-4442-8>
- Kutscha NP, Hyland F, Schwarzmant JM. 1975. Certain seasonal changes in Balsam fir cambium and its derivatives. *Wood Science Technology* **9**: 175-188. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00364636>
- Larson PR. 1994. *The vascular cambium: development and structure*. New York: Springer. ISBN-10: 3540571655; ISBN-13: 978-3540571650
- Li X, Rossi S, Liang E, Camarero JJ. 2016. Temperature thresholds for the onset of xylogenesis in alpine shrubs on the Tibetan Plateau. *Trees* **30**: 2091-2099. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00468-016-1436-z>
- Liang E, Eckstein D, Shao X. 2009. Seasonal cambial activity of relict Chinese pine at the northern of its natural distribution in North China, exploratory results. *IAWA Journal* **30**: 371-378. DOI: <https://doi.org/10.1163/22941932-90000225>
- Marcati CR, Dias-Milanez CR, Rodrigues-Machado S. 2008. Seasonal development of secondary xylem and phloem in *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake Leguminosae: Caesalpinioideae). *Trees* **22**: 3-12. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00468-007-0173-8>
- Oribe Y, Funada R, Kubo T. 2003. Relationship between cambial activity, cell differentiation and the localization of starch in storage tissues around the cambium in locally heated stems of *Abies sachalinensis* (Schmidt) Masters. *Trees* **17**: 185-192. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00468-002-0231-1>
- Oribe Y, Funada R, Shibagaki M, Kubo T. 2001. Cambial reactivation in locally heated stems of the evergreen conifer *Abies sachalinensis* (Schmidt) Masters. *Planta* **212**: 684-691. DOI: <https://doi.org/10.1007/s004250000430>
- Polák T, Rock BN, Campbell PE, Soukupová J, Šolcová B, Zvará K, Albrechtová J. 2006. Shoot growth processes, assessed by bud development types, reflect Norway spruce vitality and sink prioritization. *Forest Ecology and Management* **225**: 337-348. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2006.01.027>
- Plomion C, Leprovost G, Stokes A. 2001. Wood formation in trees. *Plant Physiology* **127**: 1513-1523. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.010816>
- Prislán P, Gričar J, De Luis M, Smith K.T, Čufar K. 2013. Phenological variation in xylem and phloem formation in *Fagus sylvatica* from two contrasting sites. *Agricultural and Forest Meteorology* **180**: 142-151. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2013.06.001>
- Raunkiaer C. 1934. *The life forms of plants and statistical plant geography*. Oxford: Oxford University Press.
- Rossi S, Deslauriers A, Anfodillo T. 2006a. Assessment of cambial activity and xylogenesis by microsampling tree species: an example at the Alpine timberline. *IAWA Journal* **27**: 383-394. DOI: <https://doi.org/10.1163/22941932-90000161>
- Rossi S, Deslauriers A, Anfodillo T, Carraro V. 2007. Evidence of threshold temperatures for xylogenesis in conifers at high altitudes. *Oecologia* **152**: 1-12. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00442-006-0625-7>
- Rossi S, Deslauriers A, Anfodillo T, Morin H, Saracino A, Motta R, Borghetti M. 2006b. Conifers in cold environments synchronize maximum growth rate of tree ring formation with day length. *New Phytologist* **170**: 301-310. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01660.x>
- Ruzin SE. 1999. *Plant microtechnique and microscopy*. Oxford: Oxford University Press. ISBN-10: 0195089561; ISBN-13: 978-0195089561
- Seo JW, Eckstein D, Jalkanen R, Rickebusch S, Schmitt U. 2008. Estimating the onset of cambial activity in Scots pine in northern Finland by means of the heat-sum approach. *Tree Physiology* **28**: 105-112. DOI: <https://doi.org/10.1093/treephys/28.1.105>
- Swidrak I, Gruber A, Oberhuber W. 2014. Xylem and phloem phenology in occurring conifers exposed to drought. *Trees* **28**: 1161-1171. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00468-014-1026-x>

- Taiz L, Zeiger E. 2010. *Plant physiology*. Massachusetts: Sinauer Associates.
- Thibeault-Martel M, Krause C, Morin H, Rossi S. 2008. Cambial activity and intra annual xylem formation in roots and stems of *Abies balsamea* and *Picea mariana*. *Annals of Botany* **102**: 667-674. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcn146>
- Treml V, Kašpar J, Kuželová H, Grye V. 2015. Differences in intra-annual wood formation in *Picea abies* across the tree ecotone, Giant Mountains, Czech Republic. *Trees* **29**: 515-526. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00468-014-1129-4>
- Wilson BF. 1966. Mitotic activity in the cambial zone of *Pinus strobus*. *American Journal of Botany* **53**: 364-372. DOI: <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1966.tb07348.x>
- Zarlavsky GE. 2014. *Histología vegetal. Técnicas simples y complejas*. Buenos Aires: Sociedad Argentina de Botánica. ISBN: 9789874548504

Editor de sección: Salvador Arias

Contribución de los autores: MSJN (<https://orcid.org/0000-0003-4642-1559>), LLM (<https://orcid.org/0000-0002-1690-1335>) y TT (<https://orcid.org/0000-0001-7749-5126>) diseñaron el trabajo y realizaron las observaciones de campo, MSJN realizó el trabajo de laboratorio, MSJN, SAR y TT elaboraron el primer borrador y todos los coautores discutieron, revisaron y aprobaron el manuscrito.

Apéndice 1. Glosario de la terminología usada para describir la formación de xilema y floema, así como la actividad cambial de las tres especies.

Cambium vascular	Meristemo que produce tejidos vasculares, xilema y floema; éste puede encontrarse activo o inactivo (en reposo).
Zona cambial	Consiste en las iniciales cambiales y las células madre del xilema y floema (derivadas inmediatas).
Inicio de la actividad cambial	Las células cambiales están muy vacuoladas y turgentes, al igual que los elementos de tubo criboso (ETC) y sus células acompañantes (CA); los ETC son conductores y probablemente diferenciados de las células madres del floema que estuvieron en reposo.
Cambium activo	Inicia la división del segundo estrato de células cambiales hasta el cuarto estrato de células cambiales y continúan las divisiones hasta entrar en reposo
Xilema en diferenciación	División celular limitada, célula alargada y disposición de crecimiento secundario y con protoplasma modificado o carente de éste. Las células presentan paredes birrefringentes, en las que comienza el engrosamiento de las paredes secundarias; la tinción característica de esta zona es el violeta claro (Rossi <i>et al.</i> 2006a).
Xilema conductor	Los vasos tienen las paredes lignificadas. La tinción es completamente azul cuando ya las fibras también completan su lignificación (Rossi <i>et al.</i> (2006a).
Floema en diferenciación	División celular limitada, célula alargada y disposición de crecimiento secundario, con protoplasma; además células ligeramente redondeadas (Gričar & Čufar 2008).
Floema conductor	Los ETC y CA son turgentes.
Floema no conductor	Los ETC CA comienzan a ser no conductores, las CA pierden el núcleo y los ETC cambian su forma y puede iniciar el engrosamiento de sus paredes.
Inactividad de cambium	Momento en el que no hay división celular ni diferenciación hacia el xilema o floema; el CV y el floema sin turgencia y no es conductor. En el floema no conductor hay calosa bloqueando los ETC y las paredes se observan nacaradas con microscopia fotónica. Comúnmente el tejido se encuentra colapsado.
