

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”**

**División de Agronomía**

**Germinación *In vitro* de Semillas de *Echinocactus platyacanthus* Link & Otto, y *Ferocactus stainesii* (Hook), en Respuesta a la Escarificación con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Estratificación y Tratamientos con Ácido Giberélico.**

**Por:**

**Martha Catalina Torres Basaldua**

**TESIS**

**Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:**

**Ingeniero Agrónomo en Horticultura**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.  
Octubre de 1999**

**Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”  
División de Agronomía  
Departamento de Horticultura**

**Germinación *In vitro* de Semillas de *Echinocactus platyacanthus* Link & Otto, y *Ferocactus stainesii* (Hook), en Respuesta a la Escarificación con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Estratificación y Tratamientos con Giberelinas.**

**TESIS**

**Que se Somete a Consideración del H. Jurado Examinador como  
Requisito Parcial para Obtener el Título de:**

**Ingeniero Agrónomo en Horticultura**

**APROBADA**

**PRESIDENTE DEL JURADO**

---

**Dr. Marco Antonio Bustamante García**

**SINODAL**

**SINODAL**

---

**M.S. Leticia A. Bustamante García**

---

**M.C. Emilio Padrón Corral**

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**

---

**M.C. Reynaldo Alonso Velázco**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México  
Octubre 1999**

# **DEDICATORIA**

**Dedico este trabajo con todo cariño a mis padres:**

Sr. Claudio Agustín Torres Vázquez

Sra. Yolanda Basaldua de Torres

**Por su apoyo y comprensión recibido durante este tiempo, con amor a mi esposo :**

Mario Alberto Serrano Ortega

**Con admiración y afecto a mis hermanos, cuñados :**

Sofía Yolanda Torres Basaldua

Alfonso Gómez López

Narda Patricia Torres Basaldua

J. Carmen García Mendoza

Claudio Bernardo Torres Basaldua

Rosaura Muñiz Martínez

Jorge Alberto Torres Basaldua

Ericka Jasmin Menchaca B.

**Con todo cariño :**

A mi abuelita, Sra. Crecencia Celestino<sup>+</sup>

**Porque fuiste un pilar para este trabajo y  
ahora lo eres para mi vida.**

A la Familia Solís Barrón en especial a Ana,

Nora y Angeles.

**A mis Sobrinos :**

Oscar García Torres

Claudia Alejandra Gómez Torres

Andrea García Torres

Carlos Emilio Serrano Mendoza

Edgar Bernardo Torres Muñíz

Jesús Alfonso Gómez Torres

Yadelis Torres Menchaca

**A mis amigos :**

Jorge Luis Quezada Martinez

Marcelo Siller Cepeda

Enriqueta Padilla

Julio Cesar Lobato Ochoa

**Con admiración y respeto a los señores :**

Miguel Aurelio Serrano Olvera  
María Luisa Ortega Rangel  
Juan Luis Miguel Serrano Ortega  
Ángeles Magdaleno Cárdenas  
José Antonio Serrano Ortega  
Bárbara Skinfill Nogal  
Juan Carlos Serrano Ortega  
Verónica Mendoza Puga  
Luis Eugenio Serrano Ortega  
Virginia Ortega Rangel

## **AGRADECIMIENTOS**

**A mi querida Alma Terra Mater**

**Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”**

**A todos mis maestros, en especial :**

Dr. Marco Antonio Bustamante García

M.S. Leticia A. Bustamante García

M.C. Emilio Padrón Corral

M.C. Reynaldo Alonso Velázco

Dr. Valentín Robledo Torres

**A mis compañeros de generación, en especial :**

Belisario Alonso Sánchez, Humberto Rodríguez Arano, José Xavier Palmeros Zavala, Ezequiel Rivera Mártir, Joaquín Pliego Martínez, Luis Fernando Ramírez Monrreal y Gerardo González Olivares.

**A los colaboradores de esta tesis :**

TLQ. Laura María Durón de Mancha

Sr. Rodolfo Aguirre Salas

# INDICE

<b>INTRODUCCION</b> .....	1
<b>REVISION DE LITERATURA</b> .....	6
I. Importancia de las especies cactáceas .....	6
II. Características de las especies cactáceas .....	9
1. Clasificación botánica .....	10
.....	
..... <i>Echinocactus platyacanthus</i> .....	10
.....	
..... <i>Ferocactus stainesii</i> .....	10
2. Características morfológicas .....	11
..... <i>Ferocactus stainesii</i> .....	11
..... <i>Echinocactus platyacanthus</i> .....	13
.....	
III. Propagación .....	15
1. Semilla .....	16
2. Tallo o brotes .....	18
3. <i>In vitro</i> .....	19
3.1. Semilla .....	20
3.2. Callo .....	20
3.3. Meristemos .....	21
3.4. Tallo .....	21
IV. Propagación por semillas .....	24
1. Concepto de semilla .....	25
2. Germinación .....	25
2.1. La problemática de su germinación en suelo o tradicional .....	26
.....	
2.2. Antecedentes de germinación <i>in vitro</i> y en suelo .....	30
2.3. Uso de estratificación, escarificación y ácido giberélico .....	33
.....	
V. Latencia .....	34
1. Conceptos .....	35

2. Tipos de latencia .....	38
2.1. Efecto de la luz .....	39
2.2. Efecto de la temperatura .....	40
2.3. Características de la cubierta o testa de la semilla .....	42
2.4. Concentración de sustancias inhibidoras y promotoras del crecimiento .....	43
2.5. Embrión fisiológicamente inmaduro .....	44
3. Tratamientos para romper la latencia .....	44
3.1. Escarificación mecánica .....	44
3.2. Escarificación química .....	45
3.3. Pre-enfriamiento .....	45
3.4. Germinación a bajas temperaturas .....	46
3.5. Presecado .....	46
3.6. Luz .....	47
3.7. Prelavado de semillas .....	47
3.8. Ácido giberélico .....	47
3.9. Remojo .....	48
3.10. Remoción de estructuras circundantes .....	48
VI. Propagación por semilla <i>in vitro</i> .....	48
1. Medio de cultivo .....	50
1.1. Sales inorgánicas .....	50
1.2. Vitaminas .....	51
1.3. Reguladores de crecimiento .....	51
1.4. Materiales inertes de soporte .....	52
<b>MATERIALES Y METODOS</b> .....	53
1. Ubicación del experimento .....	53
2. Material vegetativo utilizado .....	53

3. Desinfestación de las semillas .....	54
4. Medio de cultivo .....	54
5. Condiciones del cultivo .....	55
6. Experimentos .....	55
6.1. Experimento I .....	55
.....	
6.2. Experimento II .....	55
6.3. Experimento III .....	56
6.4. Experimento IV .....	56
7. Diseño experimental .....	57
8. Parámetros evaluados .....	62
<b>RESULTADOS Y DISCUSION</b> .....	63
<i>Ferocactus stainesii</i> .....	64
1. Experimento I .....	64
2. Experimento II .....	66
3. Experimento III .....	69
4. Experimento IV .....	72
<i>Echinocactus platyacanthus</i> .....	75
1. Experimento I .....	75
2. Experimento II .....	78
3. Experimento III .....	84
4. Experimento IV .....	91
<b>CONCLUSIONES</b> .....	93
<b>LITERATURA CITADA</b> .....	95
<b>APENDICE</b> .....	103

## INTRODUCCION

Los desiertos constituyen uno de los ecosistemas de más amplia distribución en nuestro país, que comprenden al rededor del 60 % del territorio nacional. Una de las características de los desiertos, además de la topografía y el clima, es su gran biodiversidad de plantas, entre las que se distinguen, junto con los magueyes, los mezquites y las yucas, un fascinante grupo de plantas; la familia Cactaceae.

Otra característica a mencionar es el alto grado de endemismo, es decir, gran parte de éstas plantas son representativas de estos ecosistemas, por lo que muchas de ellas solo crecen en lugares con determinadas características tanto ambientales como geográficas, por lo que no es posible encontrarlas en ningún otro lugar.

Desde el primer contacto que el hombre europeo tuvo con la flora del nuevo mundo, las cactáceas llamaron su atención, por sus formas caprichosas, su fiero aspecto y la utilidad que éstas le brindaban; logrando al paso del tiempo que la afición por las ellas, tomara un impulso tal que, muchas de ellas estén amenazadas o en peligro de extinción, como es el caso de *Echinocactus platyacanthus* Link & Otto. Factores que contribuyen a que estas especies estén aún mas en peligro de extinción es que muchas de estas plantas son autoestériles, de muy lento crecimiento, producen pocos hijuelos, y su semilla que por ciertos mecanismos de latencia hacen mas difícil su germinación.

Sin embargo, es natural que tales plantas como lo son las cactáceas hayan desarrollado en una forma natural, ciertos mecanismos de latencia como medio de adaptación y sobrevivencia en su hábitat natural; éstos mecanismos le permiten a la semilla no germinar hasta que se tenga las condiciones que le sean favorables.

La latencia es una protección natural, que permite a la semillas sobrevivir al estrés del medio ambiente tal como sequía o temperaturas extremas, que regularmente aparecen después de la formación de la semilla en la planta. Aún cuando los mecanismos de la latencia varían considerablemente, entre las diferentes especies de plantas, representa una barrera para la germinación, por lo que se han encontrado muchas maneras artificiales para romper la latencia de semillas. Se ha incluido tratamientos de escarificación con ácido sulfúrico, estratificación y tratamiento con ácido giberélico a *Echinocactus platyacanthus* Link & Otto y *Ferocactus stainesii* (Hook). Utilizando para este experimento, el cultivo *in vitro*, una técnica que no es reciente, pero que representa una alternativa para el aceleramiento de la germinación.

Siendo el cultivo *in vitro* una técnica específica para llevar a cabo la germinación de semillas de cactáceas, al permitir el aceleramiento de la germinación y el desarrollo de una plántula que pueda ser usada mas tarde como medio de propagación de estas especies; considerando, que la germinación *in vitro* no solo evita que las plántulas pequeñas sean atacadas por enfermedades y plagas del suelo, sino que también se obtiene una mayor y muy uniforme germinación.

Ya que la demanda de cactáceas como plantas de ornato u objeto de colección, han creado multitud de establecimientos comerciales dedicados a la importación, reproducción y venta de especímenes, estos no se dan abasto para satisfacer la demanda de ejemplares dando lugar a que comerciantes sin escrúpulos recurra a la importación ilegal de especímenes colectados en su hábitat, recolectas ilegítimas e irracionales que han puesto a muchas especies en peligro o amenaza de extinción. Para evitar este saqueo, habría que fomentarse la explotación racional de este recurso natural mediante la propagación vegetativa, como una alternativa para su preservación; y es imprescindible buscar nuevos métodos que permitan una rápida germinación y multiplicación y de esta manera su conservación.

Muchas de las especies cactáceas no producen brotes, o si bien no son numerosos, o difícilmente pueden ser enraizados por lo que la propagación debe hacerse por semilla. Sin embargo las semillas son difíciles de obtener debido a la rareza de las plantas y teniendo en cuenta que la propagación a partir de semilla no es factible, por su crecimiento extremadamente lento.

Debido a que el desarrollo que presentan es lento, en condiciones naturales, es imprescindible inducir un desarrollo rápido de individuos jóvenes que puedan cubrir la demanda y así, poder evitar su extinción. La técnica de cultivo *in vitro* combinada con algunos métodos para romper latencia podrían acelerar la germinación de éstas especies; como la escarificación química o mecánica, cuando el problema se trata de la testa de la semilla, modificando su cubierta, con el fin de permitir la entrada de agua, y el intercambio gases del medio ambiente. Así mismo algunos tratamientos con

fitohormonas; ya que la germinación de las semillas está regulada por un balance de promotores e inhibidores de crecimiento endógenos, un ejemplo son las giberelinas, pues tienen una función importante en los procesos de germinación. Y la utilización de métodos de estratificación, ya que estos estimulan el balance de inhibidores y promotores de los procesos iniciales de germinación.

Dado que no existe información en cuanto a los requerimientos de germinación *in vitro* de semillas de *Echinocactus platyacanthus* Link & Otto y *Ferocactus stainesii* (Hook), el objetivo de este trabajo de investigación fue determinar el efecto de la escarificación, pre-enfriamiento y el ácido giberélico, sobre la germinación *in vitro* de semillas de dichas especies; teniendo como meta proporcionar las herramientas adecuadas para la propagación masiva y evitar así su extinción.

# REVISIÓN DE LITERATURA.

## **I. Importancia de las especies cactáceas.**

Entre las plantas mas notables que caracterizan el paisaje de las zonas áridas de México se distinguen, junto con los magueyes, los mezquites y las yucas, un fascinante grupo vegetal, la familia *Cactaceae*.

Las cactáceas son autóctonas del continente Americano en donde se encuentran distribuidas especialmente en las regiones áridas y semiáridas. México, por sus peculiares condiciones de latitud, topografía y climas es el país que alberga, posiblemente, la mayor cantidad de especies. Si estas plantas sorprenden por las formas extraordinarias de sus tallos y hermosura de sus flores, interesan también por la anatomía de sus estructuras y las modalidades de su fisiología, indicadoras ambas de su admirable adaptación.

Estas plantas han sido y representan un importante elemento de subsistencia para los habitantes de regiones semiáridas del Centro de México. Plantas semejantes se usaban antes del arribo de los españoles.

Nuevas formas de empleo de la tierra y nuevas especies fueron introducidas con la conquista de los españoles, pero muchas plantas silvestres han persistido como recursos invaluable para los campesinos en estas regiones. Comúnmente las plantas

silvestres, son la principal fuente de comida para el ganado vacuno, cabras y otros animales domésticos.

La recolección de plantas silvestres y sus productos es continua durante todo el año, como una alternativa común, en donde el estrés ambiental imposibilita las prácticas agronómicas. En estas regiones, las comunidades rurales dependen casi completamente de la subsistencia de las plantas silvestres. La gran diversidad de la flora y de los empleos tradicionales de estas plantas silvestres hacen de las regiones semiáridas del Centro de México un amplio campo para su sobre explotación.

Entre estas plantas, las “biznagas” *Ferocactus stainesii* (Hook) y *Echinocactus platyacanthus* Link & Otto, son particularmente interesantes, por su importancia económica en México, por sus múltiples usos y por su tradición pre-hispánica de utilización.

Algunas de las especies cactáceas son endémicas, presentado su centro de diversificación en México, por éstas características presentan un potencial como plantas ornamentales, siendo valoradas no solo aquí si no también en otras partes del mundo. Por consecuencia algunas especies con potencial están siendo sobre explotadas, como lo géneros: *Coriphantha*, *Echinocatus*, *Escobaria*, *Ferocactus*, *Mammillaria*, etc.. llevándolos a una posible extinción.

Aun cuando en los pueblos Mesoamericanos empleaban la flora nativa como ornato, incluyendo algunas cactáceas, en el México actual aún no se reconoce el valor

comercial que se puede obtener en forma racional a partir de ejemplares cultivados en viveros.

En ese sentido, desde la década de 1980 varias empresas estadounidenses, europeas y japonesas propagan por medio de semillas, esquejes e incluso por técnicas de micropropagación, numerosas especies de cactáceas mexicanas, en respuesta de la demanda de los mercados internacionales, los cuales no se han cubierto totalmente; por ello resulta alentador, iniciar programas de propagación en México sobre las cactáceas nativas con potencial ornamental, considerando que esta alternativa de aprovechamiento puede contribuir a la conservación de las cactáceas que tienen problemas de supervivencia.

## **II. Características de las especies cactáceas.**

El nombre genérico “Cactus” deriva del griego “Kaktos”, significando simplemente “planta espinosa”, y como ha venido usándose en común, en casi muchas plantas suculentas con o sin espinas. Podría estar propiamente restringido el nombre a miembros de la familia botánica de las *Cactaceae*, formada por una gran fuente de especies, cerca de 2000 especies definidas, además de una gran cantidad de variedades, natural o híbridos cultivados, y muchas plantas que aun no han sido completamente clasificadas (Marsden, 1958).

El género *Ferocactus*, difiere de las especies de *Echinocactus* por sus características de flor y fruto. La mayor parte se encuentran repartidas en las zonas desérticas del Norte de la República, y se extienden hasta el Sur de los Estados Unidos. Las plantas de este grupo se conocen, en la terminología popular, con el nombre de “biznagas” y la pulpa de algunos de ellas se emplea en confitería (Bravo y Hollis, 1978).

El género *Echinocactus* fue instituido en 1827 por Link & Otto para identificar a cactus con tallos globosos y provistos de costillas; los atentos estudios de los cactologistas americanos han venido a demostrar posteriormente que, dentro de este grupo antiguo, se incluyen distintos géneros con caracteres bien definidos, entre los cuales queda comprendido el género *Echinocactus* (Bravo y Hollis, 1978).

## **1. Clasificación botánica.**

*Echinocactus platyacanthus*

*Ferocactus stainesii*

*Reino* **Plantas (Metaphyta o Embriophyta)**

*División* **Angiospermae**

*Clase* **Dicotyledoneae**

*Subclase* **Caryophyllidae**

*Orden* **Caryophyllales**

*Familia* **Cactaceae**

Cronquist, A. (1968) The Evolution and Clasification of Flowering Plants.

<i>Subfamilia</i>	<b>Cereoideae</b>	<i>Subfamilia</i>	<b>Cereoideae</b>
<i>Tribu</i>	<b>Cacteae</b>	<i>Tribu</i>	<b>Cacteae</b>
<i>Subtribu</i>	<b>Echinocactinae</b>	<i>Subtribu</i>	<b>Ferocactine</b>
<i>Género</i>	<b><i>Echinocactus</i></b>	<i>Género</i>	<b><i>Ferocactus</i></b>
<i>Especie</i>	<b><i>platyacanthus</i></b>	<i>Especie</i>	<b><i>stainesii</i></b>

## 2. Características morfológicas.

### ***Ferocactus stainesii* (Hook).**

Las características más específicas de *Ferocactus stainesii*, son: plantas simples y cespitosas; *Tallos* columnares, hasta de 3 m de altura y de 50 cm de diámetro; *Costillas* 13 a 20, no tuberculadas en las plantas adultas, algo agudas; *Aréolas* ovadas, hasta de 20 mm de longitud y 8 mm de anchura, densamente tomentosa cuando jóvenes, distantes entre sí cerca de 25 mm en los tallos jóvenes, confluentes en las plantas adultas; *Espinas* no diferenciadas en radiales y centrales; 4 más centrales de 5 cm de longitud, dispuestas en cruz, la superior y la inferior frecuentemente aplanadas dorsiventralmente; 2 a 5 subcentrales algo más cortas que las principales y varias más apicales y basales aún más pequeñas; todas ellas subuladas, anuladas, ligeramente curvas, extendidas de color rojo o amarillo o de ambos colores; cerdas marginales radiales en torno de la aréola, a veces ausentes, cuando presentes de 2 a 4 cm de longitud, torcidas, blancas; *Flores* numerosas, dispuestas en corona cerca del ápice del tallo, pequeñas, de unos 4 cm de longitud, amarillas o rojas, incluidas entre las espinas y que no abren ampliamente; pericarpelo corto, ovoide, cubierto con escamas cortas,

circulares, en transición con los del tubo receptacular y éstas con los segmentos exteriores del perianto; estambres amarillos, filamentosos de 1 cm de longitud; anteras amarillas; estilo amarillo; lóbulos del estigma 15, amarillos; *Fruto* ovoide, de 3 a 4 cm de longitud, amarillo, con paredes carnosas y suculentas, cubierto por escamas circulares, conservando adheridos los restos secos del perianto; *Semillas* de 1.5 a 2 mm de longitud; testa foveolada, negra o de color castaño oscuro; hilio basal, algo largo, pequeño (Bravo, 1978).

Generalmente se le localiza en los Estados del Norte del Altiplano, San Luis Potosí, Durango, Tamaulipas y Nuevo León. El neotipo es del Este de la ciudad de San Luis Potosí. Crece en los suelos calizos o aluviales tanto en las faldas de los cerros como en planicies, formando parte del matorral desértico micrófilo y rosetófilo (Bravo, 1978).

En estos matorrales, esta hermosa cactácea destaca por la intensa coloración roja de sus espinas y sus flores de color amarillo anaranjado. Los botones florales son comestibles, y se les expende bajo el nombre de “cabuches”. Sus frutos, aunque ácidos, también son comestibles y se les conoce con el nombre vulgar de “limón de viznaga” (Bravo, 1978).

El nombre de *Ferocactus stainesii* fue dado en honor del señor Fred Staines, minero escocés residente en San Luis Potosí, quien envió algunos ejemplares de esta especie, junto con otras cactáceas, a la reina Victoria de Inglaterra; ejemplares que fueron cultivados en los jardines botánicos reales de Kew.

***Echinocactus platyacanthus* Link & Otto.**

Las características específicas de *Echinocactus platyacanthus* Link & Otto son de tallos globosos, subglobosos, gruesamente columnar hasta toneliforme, muy grande, los ejemplares adultos de 50 cm a 2 m de altura y de cerca de 40 a 80 cm de diámetro, de color verde oscuro o algo glauco, presentando en las formas jóvenes, bandas horizontales de color rojizo purpúreo; ápice hundido, llevando abundante lana amarillenta que forma una amplia zona lanosa circular o más o menos elíptica; *Costillas* gruesas y duras, cuyo número aumenta con la edad, de 5 a 8 en las formas juveniles hasta alrededor de 60 en las formas columnares viejas, con vértice agudo, con la base mas o menos ancha y los surcos intercostales profundos; *Espinación*, variable en relación con la edad de la planta; todas las espinas grandes y gruesas, subuladas o mas o menos aplanadas, estriadas transversalmente, al principio amarillentas hasta con tintes rojizos, después más o menos castañas y al final negruzcas; *Flores* numerosas emergiendo entre la lana del ápice, diurnas, abriéndose ampliamente, de unos 5 a 7 cm de diámetro, de color amarillo intenso; pericarpelo y región receptacular indiferenciados, formando un todo obcónico, de paredes gruesas, la región pericarpelar de alrededor de 2 cm de longitud y 1.2 cm de diámetro, provista de muchas escamas angostamente lineares y largamente acuminadas, cavidad del ovario ovoide, de 6 mm de diámetro, con óvulos numerosos provistos de funículos ramificados; nectario en torno de la base del estilo, cerca de 1 cm de longitud; estambres muy numerosos; filamentos amarillos, anteras de color amarillo cromo; estilo grueso, de 3 a 3.5 cm de longitud, amarillento, estriado longitudinalmente, lóbulos del estigma 10 a 12, de unos 8 mm de

longitud, amarillos; *Fruto* seco, largamente ablongo, de 5 a 7 cm de longitud, amarillento, con escamas numerosas, angostamente lineares, escariosas, con lana y pelos axilares que cubren la pared del fruto; conserva adheridos los restos secos del perianto; *Semillas* de alrededor de 2.5 mm de longitud; testa negra, con ornamentación celular; hilo basal lateral, micrópilo pequeño, próximo al hilio (Bravo, 1978).

Estas plantas crecen lentamente y pasan muchos años (cerca de un siglo) para adquirir su forma columnar o de tonel, pudiendo llegar a alcanzar hasta 3 m de altura y a pesar varias toneladas; florecen muy pronto, desde sus estados juveniles globosos, de 8 costillas (Bravo, 1978).

Crece en las laderas de los cerros formando parte de la vegetación integrada por matorrales desérticos rosetófilo y micrófilo. Las descripciones indican que existe en el Estado de México, pero no precisan un lugar determinado. Pero se les ha visto en los Estados de Zacatecas y Coahuila. Así como también se les puede encontrar en los estados de Hidalgo y Querétaro. En Hidalgo se han visto en las siguientes localidades: El Tepe, Presa Madero, Cercanías de El Cardonel, Tasquillo, Tunititlán, entre Actopan e Ixmiquilpan, barranca del Río de Tula, barrancas de los ríos Moctezuma y Tolián, inmediaciones de las grutas de Xoxafi, Barranca de Tolantongo, etc. (Bravo, 1978).

En Querétaro se han observado poblaciones en la barranca del Río Moctezuma, en la cuenca del Río Extórax, en Cerro Prieto, cerca de Cadereyta, en la zona del Vizarrón, en Maconí, etcétera (Bravo, 1978).

### **III. Propagación.**

Las cactáceas son rápidamente propagadas por cortes o retoños. Por tanto la propagación por semilla no es la única vía, pero sí la más económica y satisfactoria de propagarlas, aunque se ha escrito mucho sugiriendo lo contrario, pudiendo tener éxito con poco o nada de equipo especial (Marsden, 1958).

#### **1. Semilla.**

Aunque muchas de las especies de cactáceas pueden con debido esmero y paciencia propagarse a partir de semillas, éstas en muchos casos son difíciles y raramente obtenibles, mientras otras crecen lentamente y no se tiene el tiempo y el esfuerzo que ellas necesitan para germinar. Sin embargo, la mayoría de las especies son rápida y fácilmente propagadas cuando se les da un apropiado tratamiento teniendo simples precauciones (Marsden, 1958).

Propiamente madurada la semilla, guardada en seco y cubierta en papel, podría permanecer fértil por un largo tiempo y podría germinar en dos o tres años después de colectada, aunque no tendría un establecimiento uniformemente como cuando ésta es fresca (Marsden, 1958).

Muchos métodos han sido descritos para la propagación de cactus por semilla. Importantes libros en cactus tienen una sección para el cultivo de éstos (Graham, 1987; Haustein, 1988). Pero uno de los más interesantes métodos en los recientes años ha sido desarrollado por Manuel Rivas de la Universidad de México. El método de Rivas emplea para la propagación un medio estéril, tratando las semillas con un fungicida las cuales son plantadas en este suelo que posteriormente es sellado para prevenir contaminación y pérdida de humedad. Una vez en la cámara las pequeñas plántulas necesitan poca atención. El experimento se llevó cerca de un período de 40 meses, el cual tenía como objeto el de comprobar la efectividad del método de Rivas (Fitz Maurice, 1989). El sustrato reportado por Avolio (1982) para la germinación de semillas de cactáceas, consistía en una composta con  $\frac{1}{2}$  de turba,  $\frac{1}{4}$  de tierra de hoja y  $\frac{1}{4}$  de arena, lavado todo y cernido finamente. La esterilización se realizó saturando el medio con agua y sometiéndolo a una temperatura de 100 a 125° C en el horno por 15 a 20 minutos aproximadamente.

Sin embargo, existen métodos más simples como el descrito por Mirinskii (1985). Un contenedor preparado con semillas de cactáceas es mantenido a una temperatura de 14 - 16° C durante 5 - 8 días, siendo ésta temperatura ideal para ciertas cactáceas que empiezan a germinar. Después, la temperatura se eleva a 20 - 22° C, germinando rápidamente una porción de las semillas restantes en el curso de 2 - 4 días. La etapa final es otra elevación de temperatura a 30 - 35°C; y las semillas que han quedado sin germinar lo hacen en 2 - 3 días. El porcentaje de germinación alcanza 90 - 95 %, aun con especies francamente difíciles, en el curso de 9 a 15 días.

Avolio (1982) encontró que utilizando un medio estéril y saturándolo desde abajo por imbibición con agua esterilizada, sellando los semilleros con bolsas de celofán y manteniendo una temperatura de 18 - 20° C, obtuvo del 80 al 90 % de germinación, aún en semillas como *Melocactus*, *Obregonia*, *Epithelantha*, etc.

## **2. Tallo o brótes.**

Estas porciones vegetales proporcionan una rápida y fácil forma de propagación de las cactáceas, y es uno de los métodos para la reproducción de híbridos. Es una excelente manera de mejorar una planta desproporcionada o reemplazar una que ha empezado en convertirse en vieja. Cuando una planta está a punto de envejecer deja de desarrollarse, es el momento para remover un extremo o punta de la planta y obtener un nuevo vigoroso espécimen, y usualmente la misma planta vieja podría responder al corte y producir nuevos tallos. El mejor tiempo es durante la primavera y el verano cuando el crecimiento es vigoroso. Ejemplos de lo anterior lo podemos observar en las siguientes especies, *Opuntia*, *Grusonia*, *Maihuenia*, *Nopalea*, *Epiphyllantus*, *Schlumbergera*, *Zygocactus*, etc.

Especies cilindriformes: *Cereus*, *Cephalocereus*, *Selenicereus*, *Harrisia*, *Pachycereus*, *Lemaireocereus*, *Piptanthocereus*, *Espostoa*, *Myrtillocactus*, etc.

Especies globulares: *Echinocactus*, *Echinopsis*, *Mammillarias*, etc.

Especies con retoños: *Echinopsis*, *Rebutia*, *Mammillaria*, *Gymnocalcium*, *Lobivia*, y algunos *Cereus* y algunas especies relacionadas con *Mammillopsis*, *Notocactus*, etc. (Marsden, 1958).

### **3. *In vitro*.**

El cultivo de tejidos vegetales se basa en la totipotencialidad celular, concepto que es introducido por Haberlandt (1902), que se refiere a la capacidad que tienen algunas células vegetales para desarrollar un nuevo individuo, siempre y cuando estén dadas las condiciones apropiadas (Bidwell, 1979).

Ahora que la propagación vegetativa por medio del cultivo de tejidos se está convirtiendo en una técnica rutinaria para muchas especies vegetales, el almacenamiento de propágulos en condiciones asépticas puede ser la respuesta al problema de muchos casos (Withers, 1982).

#### **3.1. Semilla.**

Cerca de 1980 fue descubierto que es posible obtener la iniciación de tallos múltiples directamente de semilla. Las semillas esterilizadas fueron plantadas en un medio que contenía citocininas. Como la germinación se realizó, aparecieron brotes

adventicios y/o axilares, muchos de los cuales fueron cultivados en el mismo medio. Altos rangos de multiplicación fueron obtenidos. Por ejemplo, Hisajima (1982) estimó que diez millones de brotes de almendras podían ser derivados teóricamente de una semilla (George, 1993).

### **3.2. Callo.**

La inducción de callo a partir de una porción vegetal sucede cuando el inoculo ya estéril se pone en contacto con un medio de cultivo que induzca y mantenga un crecimiento y una división celular continuas (Yeoman y Mcleod, 1977). La característica más importantes del callo es la totipotencia de sus células, y que en general, con un manejo adecuado de las condiciones nutricionales, hormonales y ambientales, tienen la capacidad de desarrollar brotes, raíces, embriones, etc. (Hurtado y Merino, 1991).

### **3.3. Meristemos.**

Los meristemos apicales han sido los inóculos más efectivos para la producción de plantas completas en una amplia gama de cultivos económicamente importantes (Quak, 1977; Walkey, 1978). Cuando son cultivados en un medio adecuado, los meristemos pueden regenerar plántulas completas más rápidamente que los tejidos de otras fuentes; las plantas regeneradas usualmente retienen características genéticas de los progenitores, lo que se debe a la naturaleza diploide de las células meristemáticas (Murashige, 1974).

### 3.4. Tallo.

A medida que el embrión se desarrolla y se transforma en una planta adulta, la adición de nuevas células se restringe a ciertas partes de la misma, mientras que el resto de la planta se especializa en otras actividades específicas; estos tipos de células que retienen su actividad embrionaria durante toda la vida de la planta se llaman meristemos. Desde 1759, se reconoció que esta región indiferenciada daba origen al crecimiento de la planta (Esau, 1976).

Podremos mencionar a Mauseth y Halperin (1975), trabajando con *Opuntia polyacantha*, quienes cultivaron aréolas en un medio preparado con citocininas. El meristemo axilar se activó y se produjeron brotes. Con 10 ppm de BA se activaron el 100 % de los meristemos (Johnson and Emino, 1977).

Mauseth (1975) trabajó con once especies de cactáceas obteniendo únicamente callos y esporádicas raíces, por lo que considera que es importante dirigir esfuerzos para identificar los medios y concentraciones de hormonas adecuados para la inducción de organogénesis.

Mauseth (1979) logró propagar ocho especies cactáceas: *Chamaecereus sylvestrii*, *Epiphillum* (híbrido), *Hatiora salicornioides*, *Lobivia binghamiana*, *Mammillaria elongata*, *Opuntia basilaris*, *Opuntia polyacantha*, *Pachycereus pringlei*,

*Pereskia aculeata*, *Selenicereus grandiflorus*. Utilizó yemas axilares sembrándolas en el medio modificado de Lin y Staba, al cual se le agregaron 0.0, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0, 50.0 y 100.0 mg/l. de BA<sub>3</sub>. Las de 50.0 y 100.0 mg/l causaron la muerte de los explantes.

En un medio MS, adicionado con reguladores de crecimiento, se observó la elongación de brotes con las especies *Hylocereus calcaratus* y *Rhipsalis teres* (Johnson y Emino, 1979a).

Kolar, *et al.*, (1976) cultivaron callo de *Mammillaria woodsii* obteniendo algunos brotes con areolas aparentes, después de algunos subcultivos en un medio MS adicionado con 2 mg/l de ácido indolacético y 2 mg/l de kinetina.

La iniciación de brotes de *Mammillaria elongata*, a partir de la siembra de yemas en un medio MS suplementado con una mezcla orgánica de Murashige, Serpa y Jones (Skoog y Miller, 1957), fue promovida en diferentes grados para cada una de las citocininas probadas. Kinetina a 20 mg/l, 2iP de 10 a 60 mg/l y BA a 80 mg/l produjeron buena respuesta. La iniciación de brotes más consistente ocurrió como respuesta a los niveles bajos de 2iP (alrededor de 10 mg/l), completando con 1 mg/l de ácido indolbutírico (Johnson y Emino, 1979b).

El medio MS adicionado con 1 mg/l de ANA y 10 mg/l de kinetina, produjo la proliferación de brotes axilares de *Equinocereus pectinatus* var. *neomexicanus*, *Ferocactus covillei* y *Ferocactus wislizenii* (Ault y Blackmon, 1985).

Ault y Blackmon (1987) reportan haber propagado *Ferocactus acanthodes*, cultivando explantes apicales de plántulas germinadas *in vitro*, en un medio MS adicionado con varias sustancias incluidas 46.5  $\mu\text{M}$  de Kinetina y 5.4  $\mu\text{M}$  de ANA.

#### **IV. Propagación por semillas.**

Plantas como las cactáceas presentan un desarrollo extremadamente lento, y aun cuando los frutos de éstas producen generalmente un gran número de semillas, son muy pocas las que llegan a germinar y producir nuevas plantas. Por el hecho de que son víctimas por parte de hormigas, aves y mamíferos, al servirles de alimento. Así como las condiciones desfavorables a que están expuestas en el proceso de germinación, frecuentemente al ser diseminadas así como también a la presencia de algún tipo de latencia, lo que hace que no tengan los elementos adecuados que protejan el desarrollo de las plántulas, en tanto estas lleguen a formar sus tejidos protectores y de almacenamiento (Bravo, 1978).

Cuando los cactus nacidos de semilla alcanzan un tamaño de más o menos 2 cm, es el momento del traspasarlos, tardando esto aproximadamente uno a dos años, según la especie (Rivas, 1981).

Al tratar de germinar varias especies de cactáceas en composta, se obtuvo un porcentaje de germinación bajo, y las semillas que no germinaron, se les rompió la testa por el borde del hilio y se obtuvo el embrión; posteriormente se colocaron en un

nuevo medio estéril, y a las 24 a 48 hrs empezó la germinación, mejorándose los resultados hasta en un 100 % (Novelli y Meregalli, 1982).

## **1. Concepto de semilla.**

La semilla es un paquete de energía y de información siendo el estado mínimo de entropía en el ciclo de las angiospermas y gimnospermas (Reyes, 1993).

Botánicamente, en las angiospermas, la semilla es el óvulo maduro encerrado dentro del ovario maduro o fruto. La semilla es lo que completa el proceso de reproducción que se inicia en la flor de la planta. En las angiospermas las semillas se originan del tejido meristemático presente en la pared del ovario donde se forma el óvulo que después de ser fecundado continua su desarrollo y madurez (Reyes, 1993).

## **2. Germinación.**

Slaughter (1980) define la germinación como un proceso de cambio: el cambio de una pequeña estructura inactiva viviendo con abastecimiento mínimo, a una planta que crece activamente, destinada a llegar a la autosuficiencia antes que los materiales de reserva de la semilla se terminen. Sin embargo para estos propósitos se define la germinación como la emergencia y desarrollo de aquellas estructuras esenciales que provienen del embrión, y que manifiestan la capacidad de la semilla para producir una planta normal bajo condiciones favorables (ISTA, 1985).

Otra definición de germinación incluye los cambios tanto físicos como fisiológicos que dan como resultado la iniciación del crecimiento y movilización de las sustancias de reserva dentro de la semilla que son utilizados por el embrión para su crecimiento y desarrollo (Reyes, 1993).

### **2.1. La problemática de su germinación en suelo o tradicional.**

Los patrones de la historia de la vida, determinan el lugar y el tiempo en que una planta puede desarrollar apropiadamente los procesos de germinación, crecimiento y reproducción; las etapas más vulnerables en el ciclo de vida de las plantas son la germinación, el establecimiento y la dispersión, resultando esta vulnerabilidad más evidente en aquellas poblaciones de especies sujetas a presiones que las ponen en peligro de extinción (Barbour *et al.*, 1987).

Sin embargo, la presencia de algún tipo de latencia en las semillas puede ser vista como un mecanismo de sobrevivencia de las plantas, al mostrar las semillas mediante ella, la habilidad para retardar su germinación hasta que el tiempo y el lugar sean oportunos. De esta forma, se le considera como una adaptación biológica de las especies que otorga ciertas ventajas en los ciclos de crecimiento de las plantas durante variaciones estacionales y fortuitas (Reyes 1993).

Por otra parte la latencia puede ser considerada como la incapacidad de la semilla para germinar bajo condiciones normales de imbibición, temperatura y oxigenación. De esta manera, la latencia en semillas es frecuentemente definida como

un estado de suspensión o reducción considerable de la actividad fisiológica; generalmente, este es un período transitorio, el cual puede ser relativamente largo, pudiendo ocurrir cambios metabólicos a medida que va disminuyendo la latencia. (Come, 1980-1981).

Mucha de esta información al parecer aun no se ha reconocido o usado en la producción de cactus. Por ejemplo, las semillas en general podrían no germinar a pesar de las condiciones favorables, aunque los mecanismos naturales de la latencia le permiten sobrevivir al estrés del medio ambiente tal como sequías, temperaturas extremas que regularmente aparece después de la formación de la semilla, en la planta en su ambiente natural. Si bien es común saber que se tiene gran variación en los períodos de latencia de semillas individuales de la misma producción y de la misma planta, con una normal distribución, en algunos casos una sola planta puede producir distintos estados de latencia en semillas individuales, presentando discontinuidad en el tiempo de germinación. Consecuentemente una cantidad de semillas podría producir un pequeño número inicial de semillas germinadas seguidas de un prolongado período de no germinación y después del cual el resto de las semillas podían repentinamente germinar (Roberts, 1972).

Los requerimientos específicos de germinación están relacionados con las condiciones ambientales en que las especies vegetales están sujetas. Esos mecanismos son de especial importancia en las plantas que crecen en regiones desérticas o frías, inmediatamente después de la diseminación de la semilla (Hartman and Kester, 1980).

Las semillas de algunas especies pueden permanecer enterradas en el suelo por muchos años y permanecer latentes aunque hayan absorbido humedad. La germinación ocurre cuando el suelo se altera y las semillas quedan expuestas a un nuevo grupo de condiciones ambientales tales como la luz, atmósfera gaseosa modificada o temperaturas fluctuantes (Rabenda, 1990).

Es natural que las plantas tales como las cactáceas, que son nativas de un medio ambiente como lo es el desierto, han tenido que desarrollar en forma natural mecanismos de latencia. Esto parece describir la observable conducta de las semillas de cactáceas (Rabenda 1990).

Sin embargo el desarrollo de estas especies es extremadamente lento en condiciones naturales, y en lo que respecta a la propagación por métodos convencionales un tanto difícil ya que no todas las técnicas son idóneas para cada una de las especies existentes, como enraizamiento de esquejes de tallo, o el de ramificación de hijuelos (Harrington, 1980).

Muchas cactáceas producen numerosos brotes o pueden enraizar fácilmente de cortes, sin embargo, en muchas especies o en gran número ellas, ninguno de estos métodos pueden ser usados, por lo que la propagación debe hacerse por semilla, las cuales pueden ser difícil de obtener debido a la rareza de estas plantas y a la auto esterilidad, teniéndose además que la propagación a partir de semilla a menudo no es factible en caso de especies que tienen un crecimiento extremadamente lento (Mauseth 1979).

Por lo que es imprescindible inducir un desarrollo rápido de estas especies, para evitar la desertificación de las zonas áridas, y de su hábitat natural (Heras 1990).

## **2.2. Antecedentes de germinación *in vitro* y en suelo.**

Desde hace ciento veinte años aproximadamente, se ha utilizado la técnica de cultivo de tejidos, órganos y células vegetales, que consiste en cultivar en medios nutritivos adecuados y en forma aséptica semillas, embriones, ápices caulinares, meristemos, tejidos, células y protoplastos sobre medios nutritivos estériles, con el resultado de la producción y regeneración de individuos viables de muchas especies de plantas (Street, 1977).

Los primeros intentos en esta técnica fueron realizados por Sacks (1860) y Knops (1861), quienes observaron que los principales nutrientes de las plantas superiores eran sustancias inorgánicas, y prepararon una solución nutritiva que los contenía, la cual ha sido utilizada por muchos investigadores, desde entonces (Hurtado y Merino, 1991).

En 1904 Hännig desarrolló un nuevo método de cultivo de plantas al que se llamó cultivo de embriones. Aisló, *in vitro*, embriones inmaduros de algunos miembros de la familia de las crucíferas, obteniendo plántulas viables. Muchos nuevos tipos de cultivo se han hecho populares desde 1920, como: La siembra *in vitro* de semillas de orquídea, el cultivo de callos, el cultivo de órganos, etc.

La propagación vegetativa *in vitro* (también llamada micropropagación) ha producido resultados de enorme importancia para la agricultura, horticultura y silvicultura. Es especialmente notable en horticultura, donde se encuentra una rápida respuesta a los resultados de la investigación en cultivo *in vitro* (Pierik, 1990).

La micropropagación, que es el desarrollo de plantas nuevas en medios artificiales bajo condiciones asépticas, brinda la posibilidad, particularmente significativa de proporcionar métodos de propagación vegetativa rápida para plantas en la que la reproducción normal es muy lenta o imposible (Pierik, 1990).

Ha habido algunos intentos en el cultivo de cactus y cultivo de callo en forma estéril. Steinhart (1962) se interesó en el cultivo de *Trichocereus spachianus*, para biosíntesis de alcaloides como objeto de su investigación. Mientras que Sachar e Iyer (1959) han usando los métodos de cultivo para estudiar la morfogénesis en *Opuntia dillenii*. Otros (Nitsch, 1951; King, 1957; Colomas, 1971; Minocha y Mehra, 1974) investigaron el cultivo de callo pero como un significado para determinar la universalidad de las técnicas mismas del cultivo y estudiar la fisiología de estas únicas plantas.

Como es el caso de *Echinocactus grosonii* que es tan lento que las plantas obtenidas de una germinación realizada en 1966, por Nava y Chávez (1982), aún no han florecido. Otro ejemplo es el caso de *Carnegie gigantea* nativa del Desierto de Sonora que se reproduce con éxito en años de buena lluvia, y, pueden pasar de 7 a 20 años entre

generaciones de plantas. Los colectores generalmente se llevan plantas de un mismo tamaño, lo cual significa que son plantas de la misma edad. Así la sobre colección, puede introducir una brecha generacional hasta de 40 años en plantas con posibilidad de reproducirse (Bravo, 1978).

Sin embargo, la aparición de artículos recientes en varias revistas que señalan el hecho de que numerosas especies de cactáceas están amenazadas o en peligro de extinción, ha hecho necesario el crear una estrategia que permita salvar esos recursos vegetales antes que se pierdan definitivamente (Corona y Chavez, 1982).

Buscando una respuesta a este problema se ha encontrado que la micropropagación, brinda esta posibilidad, por el hecho de proporcionar métodos de propagación vegetativa rápida y masiva (Corona y Chavez, 1982).

### **2.3. Uso de estratificación, escarificación y ácido giberélico.**

Indudablemente el método para romper latencia dependerá del tipo de latencia presente en la especie. Las técnicas más comúnmente usadas son:

- El uso de escarificación mecánica o química; que consiste en frotar las semillas en superficies abrasivas, tales como papel de lija, piedra de carbonato de silicio o un escarificador eléctrico, que sirva para ocasionar pequeñas aberturas en su cubierta.

(Moreno, 1984). Y la química que consiste en sumergir a la semilla en un ácido fuerte, generalmente diluido, el tiempo de inmersión es variante (Delouche, 1973).

Este método es utilizado cuando la latencia de la semilla se debe a la dureza de ésta; es decir, cuando las cubiertas de la misma actúan como una barrera física para la germinación a través de la cual se evita la expansión del embrión o el crecimiento de la radícula; o ya sea, restringiendo el suministro de agua o el intercambio gaseoso; por lo que es obvio que para esta latencia sea rota el mecanismo utilizado consistirá en afectar las cubiertas (Reyes, 1993).

- La estratificación ó pre-enfriamiento; consiste en someter las semillas a bajas temperaturas, normalmente entre 1 - 10° C por un período sustancial. Este método es utilizado para establecimiento forestales de semillas invernantes o frutos en pepita, y es conocido como “estratificación”. El período más largo de enfriamiento de semillas intactas probablemente resulta de la existencia de tres mecanismos de latencia: la latencia del embrión, pericarpio duro y la presencia de inhibidores en la testa y pericarpio (Reyes, 1993).
- La aplicación de ácido giberélico; consiste en humedecer el sustrato con una solución de ácido giberélico a diferentes concentraciones. En la interrupción de la latencia en semillas, induce la síntesis de la enzima amilasa, en las semillas en germinación, posibilitando que el almidón pase a glucosa para ser respirada y liberar la energía necesaria para el desarrollo del embrión. Esta inducción se efectúa activando un precursor inactivo de RNA mensajero (Jacobsen *et al.*, 1962).

## **V. Latencia.**

El término de latencia en semillas ha sido un fenómeno difícil de definir, así mismo se ha utilizado para nombrar cierta clase de fenómenos, lo cual ha resultado en confusiones.

### **1. Conceptos.**

Pollock y Toole (1962) utilizaron el término latencia como un mecanismo mediante el cual, pueden superarse las condiciones resultantes de un desarrollo desfavorable así como un inadecuado suministro de agua o donde existan bloqueos internos que impidan el proceso de germinación.

La latencia en términos generales es considerada como una forma de cese de crecimiento (Amen, 1963). El mismo autor ha restringido el término de latencia a una suspensión temporal del crecimiento acompañada de una reducción de la actividad metabólica, relativamente independiente de las condiciones ambientales.

Una definición aplicada más comúnmente es el que la latencia es un estado en el cual una semilla viable, disminuye su germinación bajo condiciones favorables de humedad, temperatura y oxígeno para el crecimiento (Reyes 1993).

Una semilla latente es una semilla que está viva pero que no germina bajo ciertas condiciones favorables para la germinación de otras semillas no latentes de la misma clase. La latencia puede manifestarse como la completa inhabilidad de las semillas para germinar o en un aumento específico en los requerimientos de germinación, por ejemplo, estas semillas puede que necesiten una temperatura especial, condiciones de humedad o cualquier otro tratamiento especial (Delouche, 1965).

En forma práctica se define el término latencia como un estado en el cual una semilla viable no germina aún cuando se encuentra en condiciones favorables para germinar, esto es, cuando se encuentra bajo una adecuada temperatura, humedad y oxígeno (Roberts, 1972).

Bidwell (1979), define el letargo como un período forzoso de baja actividad metabólica, bajo contenido de agua y nulo crecimiento, durante el cual la semilla es muy resistente a los rigores del frío y de la sequía.

Sussman y Halvorson (1966) definieron el término de latencia como un particular estado de arresto metabólico entre un metabolismo normal falso y un estado criptobiótico. Ellos definieron la latencia como "... algún período restante o de interrupción reversible del desarrollo fenológico de un organismo". Dentro de este concepto distinguieron entre latencia constitutiva (equivalente a la latencia verdadera) y latencia exógena (generalmente equiparada con quiescencia). Así mismo delimitaron que la latencia constitutiva como "... una condición de la cual, el desarrollo es retrasado debido a una propiedad innata del estado latente tal como una barrera para la

penetración de nutrientes, un bloqueo metabólico o la producción de inhibidores dentro de la semilla”.

El término latencia se ha utilizado indistintamente para describir ciertas fases de desarrollo en formas de propagación de plantas, ya sea semillas u órganos que exhiben cambios cíclicos (Reyes, 1993).

Khan (1980; 1981), menciona que la latencia en las semillas, puede ser debida a una obstrucción mecánica fisiológica, la cual evita la realización completa del potencial del crecimiento del embrión bajo condiciones moderadas.

Se denomina semillas latentes a las semillas viables (diferentes de las semillas duras) que no germinan aún cuando estén bajo las condiciones que se especifican para dicha especie (Moreno, 1984).

Sin embargo, Rojas y Ramírez (1987) mencionan que toda semilla ya formada tiene la posibilidad de germinar si las condiciones de humedad, temperatura y aireación son correctas, o de no germinar si el ambiente es frío o seco, sin morir por ello. Esta posibilidad de mantenerse en vida pero con el metabolismo suspendido, se denomina vida latente. A la incapacidad para germinar, aunque las condiciones del medio sean correctas, hasta cubrir ciertos requisitos (un determinado estímulo específico), se denomina letargo.

Por otra parte, los tecnólogos de semillas definen la latencia en un sentido más restringido, como resultado de condiciones internas de la semillas (distintas a la no viabilidad) que impiden la germinación (Schopmeyer, 1974; USDA, 1952; Villiers, 1972). En este sentido una semilla con latencia es aquella que “...no llega a germinar aun cuando haya absorbido agua y esté expuesta a condiciones favorables de temperatura, concentración de oxígeno y luz”.

## **2. Tipos de latencia.**

La latencia puede ser de varios tipos dependiendo de la causa que la provoque. Así mismo, los mecanismos que la controlan son variados pudiendo ser de origen genético o ambiental (Reyes, 1993).

Fearn (1981) señala que hay dos tipos de latencia en las semillas. *Latencia impuesta* es directamente inducida por factores ambientales. Si se guarda en seco o en temperaturas bajas la mayoría de las semillas podría no germinar hasta que la humedad y temperaturas apropiadas estén disponibles. Esta no es una latencia verdadera pero es una condición temporalmente impuesta por las condiciones prevalecientes. La *latencia verdadera* en semillas es la no directamente impuesta por el medio ambiente. Donde es imposible hacer que las semillas germinen sustituyendo condiciones ambientales para el crecimiento. La latencia verdadera puede ser eliminada por la exposición a ciertas condiciones óptimas para el desarrollo o crecimiento.

Las semillas que están verdaderamente en latencia presentan mecanismos diferentes que la causan, dentro de estos se encuentran los siguientes:

### **2.1. Efecto de la luz.**

Muchas especies han demostrado ser sensibles a la luz. La respuesta en la germinación de semillas, es promovida por la luz, por lo que son llamadas fotoblásicas negativas. El nivel de iluminación requerido puede verse disminuido, dependiendo la germinación de la cantidad de luz recibida, por ejemplo la cantidad de luz multiplicada por el tiempo de exposición por lo que alta intensidad de luz a exposiciones cortas podría ser suficiente para promover las semillas a germinar.

La necesidad de la luz para germinar, es un mecanismo que impide la germinación de semillas pequeñas enterradas muy profundamente, tanto que agotarían sus reservas antes de alcanzar la superficie y poder ser autótrofas (Bidwell, 1979).

Fearn (1981) indica que hay tres tipos principales de respuesta de las semillas a la luz:

1. Indiferentes, semillas que germinen iluminadas y no iluminadas. Afortunadamente hay muchas semillas hortícolas y agronómicas que responden a este grupo.
2. Sensibles a la luz, las semillas que pertenecen a este grupo no germinan a menos que sean iluminadas en la etapa de imbibición. El autor ha encontrado que la mayoría de las cactáceas y *Mesembryanthemaceae* pertenecen a este grupo.
3. Luz fuerte. Las semillas no germinan en la luz y deberá ser mantenida en la oscuridad durante la germinación.

## 2.2. Efecto de la temperatura.

En muchas plantas el efecto de la temperatura afecta tanto el rango como el porcentaje de germinación. Esto ha mostrado, que en diferencias relativamente pequeñas de temperaturas se afecta la respuesta de germinación. (Roberts, 1972). Las semillas de varias especies y edades germinan también en varios rangos de temperatura (Thomson, 1970; Fearn, 1974).

Según Fearn (1981) algunas observaciones sobre requerimientos de temperatura para cactáceas son las siguientes.

1. Temperaturas extremas no favorecen la germinación, abajo de 12° C y cerca de 28° C es probable que se tenga una mala germinación.
2. Diferentes especies de cactáceas tienen rangos de temperatura diferentes. E.g. *Frailea pumila* 10-40° C, *Rebutia xanthocarpa* var. *salmonea* 11.5-22.8° C.
3. Los rangos de temperatura de las semillas dependen de la edad de la misma. Este punto está asociado con los cambios metabólicos de la semilla. E.g. una semilla de 7 años de edad de *Parodia chrysacanthion* fue comparada con otra de 1 año de edad; y ambas tuvieron un 100 % de germinación, pero la temperatura requerida fue de 11.3-28.3° C para la semilla de 1 año de edad y 14.25-28.75° C para la de 7 años de edad.
4. Temperaturas fluctuantes ó alternas parecen producir mejor germinación que las temperaturas constantes y estas consisten generalmente en proporcionar una

temperatura alta y una baja alternadamente y por períodos aproximados de 8 y 16 hr. respectivamente.

### **2.3. Características de la cubierta o testa de la semilla.**

- a). La restricción mecánica al crecimiento del embrión y el conducto de ventilación pueden evitar la germinación. Una forma de librarse de esta restricción es destruyendo o modificando las propiedades mecánicas de la cubierta de la semilla. Astillando la testa, tal es el caso de *Echinocactus horizonthalonius*. Esto puede conseguirse con una abrasión natural (Koller, 1957; Barton, 1961). Otras especies difíciles podían beneficiarse con este tratamiento, pero teniendo cuidado de no dañar el embrión.
- b). La cubierta de las semillas también evita el intercambio gaseoso con el medio ambiente. El oxígeno es esencial para mantener los procesos de producción de energía y por lo tanto después de que la semilla germine necesita oxígeno. Y esto puede ser limitado por la permeabilidad de la cubierta de la semilla (Harrington, 1970).
- c). La latencia puede ser impuesta por la cubierta de la semilla, ya que presenta inhibidores del crecimiento. Estas sustancias no son hormonas debido a que estas no han presentado el movimiento típico de una hormona (producción en algún lugar y acción en otro). Estas sustancias intervienen en los procesos químicos normales los

cuales son característicos de los estados tempranos de la germinación. Cuatro ejemplos de estas sustancias son las siguientes coumarina, ácido caféico, ácido feurico y ácido vinílico (Fearn, 1981).

#### **2.4. Concentración de sustancias inhibidoras y promotoras del crecimiento.**

La latencia y la germinación quizá estén controladas por el balance entre promotores e inhibidores del crecimiento. Esta latencia puede ser considerada como resultado de la presencia de inhibidores del crecimiento, ausencia de promotores del crecimiento, o la combinación de ambos, predominando los primeros. Los niveles de estos compuestos están controlados por ciertos estímulos ambientales, tales como: luz, y temperatura (Copeland y Mcdonald, 1985).

Los inhibidores se encuentran en testa o en endospermo, que reprimen el desarrollo inicial del embrión (Rojas y Ramírez 1987).

Las semillas de las plantas desérticas generalmente tienen un mecanismo detector de la lluvia basado en los contenidos de inhibidores, esto habilita a las plantas a medir y responder a cantidades de lluvia adecuadas para su completo desarrollo. Solo cuando estas cantidades suficientes de agua han caído, suficientes inhibidores habrán sido lavados para permitir que las semillas germinen (Tevis, 1958).

## **2.5. Embrión fisiológicamente inmaduro.**

Es aquel que no es capaz de poner en marcha ciertos sistemas enzimáticos (Rojas y Ramírez, 1987).

## **3. Tratamientos para romper latencia.**

Para propósitos prácticos de propagación de plantas por semillas, es requisito indispensable la aplicación de métodos o prácticas para romper la latencia dependiendo del tipo de que se trate o causa que la provoque. Generalmente no existe una sola causa que propicie la latencia lo que hace su rompimiento más complicado (Pérez, 1990).

Los tratamientos más usuales para romper latencia dependerán del tipo de latencia presente en la especie. Las técnicas más comúnmente usadas son:

### **3.1. Escarificación mecánica.**

Con métodos como horadación cuidadosa, fragmentación, limamiento o tallado con papel lija aplicados a la cubierta de la semilla esto puede ser suficiente para romper la condición de latencia por cubiertas duras e impermeables de la semilla. La cubierta de la semilla que va ser escarificada debe ser tomada cuidadosamente evitando un posible daño al embrión y al subsecuente semillero. La mejor parte de la semilla para la escarificación mecánica es la parte de la cubierta de la semilla que está justamente sobre los tipos de cotiledones (Reyes, 1993).

### **3.2. Escarificación química.**

La digestión con ácido sulfúrico concentrado ( $H_2SO_4$ ) es efectivo en algunas especies. Las semillas se sumergen en el ácido hasta que la cubierta de la semilla empieza a abrirse. La digestión puede ser rápida o tomar más de una hora, sin embargo las semillas deben ser examinadas cada cierto tiempo (unos minutos). Después de la digestión, las semillas deben ser lavadas con agua que esté corriendo antes de aplicar la prueba de germinación (Reyes, 1993).

### **3.3. Pre-enfriamiento.**

Consiste en la aplicación de períodos de frío, para ello se colocan las semillas en el sustrato húmedo que se utiliza durante el ensayo de germinación y bajo esas condiciones se someten al período de enfriamiento en algunos casos es necesario prolongar el período de frío o repetirlo.

La temperatura recomendada es de 5 - 10° C por períodos de 3 - 7 días, y aun mayores dependiendo de la especie y de la intensidad de latencia (Pérez, 1990).

### **3.4. Germinación a bajas temperaturas.**

Se ha encontrado que ciertas semillas en latencia germinan cuando las temperaturas son más bajas que las recomendadas para la germinación normal. Si se

usan temperaturas alternas, usar una más baja; alternándola con la temperatura alta (Pérez, 1990).

### **3.5. Presecado.**

Las semillas son colocadas a una temperatura que no exceda los 40° C (35 - 40° C) bajo continua circulación de aire, durante un período hasta 7 días. Después de secarlas se someten a la prueba normal de germinación, (Pérez, 1990).

### **3.6. Luz.**

Las semillas en ensayo de germinación a temperaturas alternas, deberán ser iluminadas un mínimo de 8 horas en ciclos de cada 24 horas y durante el período de alta temperatura. La intensidad de la luz debe ser aproximadamente 750 -1250 lux, de lamparas de luz blanca. Muchas gramíneas responden al tratamiento con luz; se recomiendan lámparas fluorescentes de luz blanca (Reyes, 1993).

### **3.7. Prelavado de semillas.**

En forma natural existen sustancias en el pericarpio que actúan como inhibidores de la germinación y los cuales pueden ser removidos de la cubierta mediante el lavado

de las semillas en agua que esté corriendo a una temperatura de 25° C antes de realizar la prueba de germinación ( Pérez, 1990).

### **3.8. Ácido giberélico.**

El sustrato se humedece con una solución de ácido giberélico a 550 ppm, que se prepara disolviendo 500 mg de ácido en un litro de agua. Cuando la latencia es más débil se puede utilizar concentraciones más bajas y viceversa (Moreno, 1984).

### **3.9. Remojo.**

Las semillas que presentan cubiertas duras pueden germinar rápidamente después de ser remojadas durante más de 24 - 48 horas en agua, la prueba de germinación se puede realizar después de terminado el remojo (Reyes, 1993).

### **3.10. Remoción de estructuras circundantes.**

Para promover la germinación en ciertas especies deberán extirparse algunas estructuras como las que involucran cerdas o lemma y palea de ciertas gramíneas. La duración de la prueba o del tratamiento para romper la latencia no toma parte del ensayo de germinación (Reyes, 1993).

## **VI. Propagación por semilla *in vitro*.**

El cultivo de tejidos es un técnica vieja, desde 1920, que ha empezado a tener importancia en la producción comercial de plantas. Como Mauseth (1977), y un número ilimitado de investigadores han estudiado el potencial que tienen el cultivo de tejidos de las cactáceas. El cultivo *in vitro* ofrece muchas ventajas para el propagador de cactus. El desarrollo de las técnicas de cultivo de tejidos para esta taxa normalmente es propagada por cortes como por ejemplo *Epiphyllum*, *Zygocactus* y *Shlumbergera*. (Hollings, 1965; Rappaport, 1954).

Las cactáceas que son producidas por semillas, en la propagación de cultivo *in vitro* podrían ofrecer material más uniforme, eliminando la variabilidad en las semillas y permitiendo más control sobre el programa de producción de este mismo. Como Mauseth (1977) señaló, que el cultivo de tejidos puede también ser usado para una propagación rápida de especies amenazadas o en peligro de extinción. La rápida propagación de nuevas variedades, podría proveer programas para la perseveración de las especies cactáceas. Una rápida liberación de nuevos tipos de cactáceas podría acortar considerablemente el tiempo requerido para el establecimiento de un número considerable de material comercial (Johnson y Emino, 1979a).

Estas y otras investigaciones *in vitro* tienen aplicación como un método para la propagación de cactus. Una vez que el medio apropiado ha sido desarrollado para cada especie, se tiene completo control para su desarrollo (Johnson y Emino 1979a).

Investigaciones futuras están siendo requeridas para determinar el medio óptimo para cada especie o género de cactus. Uno de los objetivos de las investigaciones es

definir completamente los requerimientos posibles para estas especies. Las técnicas cultivo *in vitro* podría ser un método de propagación importante para el futuro de las cactáceas (Johnson y Emino 1979a).

## **1. Medio de cultivo.**

El éxito que se obtenga en un cultivo de tejidos vegetales depende del uso del medio nutritivo adecuado. Usando las sustancias químicas necesarias y las combinaciones apropiadas de nutrientes (Pierik, 1990).

La fórmula de Murashige y Skoog (1962) se empleará como ejemplo para los propósitos de este procedimiento, pues se ha demostrado que es el medio adecuado para una gran variedad de especies, así como para diferentes partes de una planta (Hurtado y Merino 1991).

### **1.1. Sales inorgánicas.**

Que se dividen en macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg, y S) y micronutrientes (B, Cu, Mn, Fe, y Zn) que son indispensables para que la planta realice su desarrollo eficientemente (Hurtado y Merino, 1991).

### **1.2. Vitaminas.**

En la planta actúan como sustancias catalizadoras. Las vitaminas más usadas son las que se mencionan a continuación: inositol (myo-inositol; 100-200 mg/l), vitamina B<sub>1</sub> (tiamina, aneurina; 0.1-5.0 mg/l), ácido pantoténico (0.5-2.5 mg/l), ácido fólico (vitamina M; 0.1-0.5 mg/l), riboflavina (lactoflavina, vitamina B<sub>2</sub>; 0.1-10 mg/l), ácido ascórbico (vitamina C; 1-100 mg/l), ácido nicotínico (vitamina PP, niacina; 0.1-5 mg/l), pirodxina (vitamina B<sub>6</sub>; 0.1-1.0 mg/l), biotina (vitamina H; 0.01-1.0), para-aminobenzoico (0.5-1.0 mg/l), tocoferol (vitamina E; 1-50 mg/l) (Pierik, 1990).

### **1.3. Reguladores de crecimiento.**

George (1993), menciona que las auxinas y citocininas son las hormonas más importantes en la regulación del crecimiento al igual que en la morfogénesis del cultivo de tejidos y órganos. Las citocininas son usadas generalmente para estimular el crecimiento y desarrollo. Estas normalmente promueven la división celular, especialmente si son usadas junto con auxinas (Pierik, 1990).

Las auxinas son usadas para promover el crecimiento de callo, suspensión de células u órganos, y para regular la morfogénesis, formación de raíces adventicias, en conjunción con las auxinas (George, 1993).

Son el compuesto más utilizado, teniendo el problema de ser sensibles a altas temperaturas (perdiendo un 90 % de su actividad) después de la esterilización... Generalmente éstas inducen la elongación de los entrenudos y el crecimiento de

meristemos o yemas *in vitro*. Además que pueden romper la latencia en embriones y en semillas (Pierik, 1990).

#### **1.4. Materiales inertes de soporte.**

El agar es el material de soporte más ampliamente usado en el cultivo de tejidos, provee al medio de un excelente gel húmedo que sirve como soporte al inóculo. Sin embargo, fisiológicamente no es inerte, pues es una fuente de cantidades variables de sustancias inhibitoras o estimulantes del crecimiento (Hurtado y Merino 1991).

## **MATERIALES Y METODOS**

### **1. Ubicación del experimento.**

Los trabajos experimentales se desarrollaron en el laboratorio de Biotecnología del Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” en Buenavista, Saltillo Coah.

### **2. Material vegetativo utilizado.**

Las semillas utilizadas en el presente trabajo fueron de dos especies cactáceas, para los experimentos I y II, se utilizaron semillas donadas por el departamento de Botánica con más de dos años de almacenamiento, para los experimentos III y IV, las semillas fueron colectadas en la misma temporada que fue desarrollado el experimento (1994), la recolección se llevó acabo en el Jardín Botánico de la misma Universidad, siendo estas:

**Echinocactus platyacanthus**  
**Ferocactus stainesii**

### **3. Desinfestación de las semillas.**

El tratamiento de desinfestación que se dió a las semillas, consistió en lavarlas con agua y detergente por cinco minutos, posteriormente en 70 % de etanol por espacio de un minuto, después se llevó a hipoclorito de sodio a una concentración del 20 % por espacio de diez minutos; y por último se enjuagaron tres veces en agua esterilizada.

#### **4. Medio de cultivo.**

Los dos tipos de semillas que se utilizaron en el presente trabajo, fueron colocadas en un medio MS (Murashige and Skoog, 1962), con la concentración normal o con un  $\frac{1}{4}$  de los Macroelementos, adicionándole diferentes concentraciones de Ácido Giberélico; sometiendo previamente a las semillas, a diferentes tratamientos de escarificación con  $H_2SO_4$ , ó de estratificación cuando éstas ya estaban en el medio nutritivo, dependiendo del experimento.

#### **5. Condiciones del cultivo.**

Las condiciones ambientales de la incubadora fueron: temperatura diurna de 25° C y 18° C por la noche; fotoperíodo de 16 horas, proporcionado por lámparas de luz blanca fluorescente, con una intensidad lumínica de 40 - 60  $\mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$  .

## **6. Experimentos.**

**Experimento I.-** Efecto de la escarificación con  $H_2SO_4$  a concentraciones de 0, 20, 30, 40 y 50 %, por tiempos de 8, 12, 16, y 20 min; se utilizó el medio MS con los macroelementos a la concentración normal.

Se colocaron 10 semillas de cada especie por frasco, con 5 frascos (repeticiones) por tratamiento y llevándose a una incubadora con las características antes ya mencionadas.

**Experimento II.-** Efecto del ácido giberélico a 0, 10, 100 y 1000 ppm y de la estratificación por 0, 10, y 20 días.

Se utilizó el medio MS con los macroelementos a la concentración normal y conteniendo dichas concentraciones de ácido giberélico.

La estratificación se llevó a cabo en una incubadora con una temperatura de  $5^{\circ}C$  y sin luz. Las semillas utilizadas fueron la mezcla del remanente de las que no germinaron en el experimento I.

Se colocaron 5 semillas por frasco con 3 frascos (repeticiones) por tratamiento y transfiriendo posteriormente los frascos a una incubadora con temperaturas de germinación normal.

**Experimento III.-** Efecto de los Macroelementos a un  $\frac{1}{4}$  de su concentración, escarificación con  $H_2SO_4$  al 20 % por 5 min; estratificación por 0, 10, 20 y 40 días, el ácido giberélico a 0, 10, 100 y 1000 ppm.

Se utilizaron 10 semillas por frasco con tres frascos (repeticiones) por tratamiento, siendo la incubación similar a las condiciones del experimento 2.

**Experimento IV.-** Efecto de los Macroelementos a un  $\frac{1}{4}$  de su concentración y escarificación con  $H_2SO_4$  al 20 % por 0, 5, 10, 20, y 40 min.

Se colocaron 10 semillas por frasco con 3 frascos (repeticiones) por tratamiento y siendo la incubación similar a las condiciones del experimento 1.

### **7.- Diseño experimental.**

Para el experimento I se utilizó un diseño con bloques al azar con arreglo factorial de 5 X 4 en 5 repeticiones; donde el factor A son las concentraciones de  $H_2SO_4$  0, 20, 30, 40, 50 % y el factor B fue el tiempo de escarificación, 8, 12, 16, y 20 min, Cuyo modelo fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + R_i + C_j + E_k + CE_{jk} + \epsilon_{ijk}$$

Con:

$i = 1, 2, 3, 4, 5$  Repeticiones

$j = 1, 2, 3, 4, 5$  Concentración de  $H_2SO_4$

$k = 1, 2, 3, 4$  Tiempos de escarificación

Donde:

$Y_{ijk}$  = Variable aleatoria observable de la  $i$ -ésima repetición con la  $j$ -ésima concentración de  $H_2SO_4$  y el  $k$ -ésimo tiempo de escarificación.

$\mu$  = Media general

$R_i$  = Efecto del  $i$ -ésimo bloque

$C_j$  = Efecto de la  $j$ -ésima concentración de  $H_2SO_4$

$E_k$  = Efecto del  $k$ -ésimo tiempo de escarificación

$CE_{jk}$  = Efecto conjunto de la  $j$ -ésima concentración de  $H_2SO_4$  y el  $k$ -ésimo tiempo de escarificación

$\mathcal{E}_{ijk}$  = Error experimental

En el experimento II se utilizó un diseño con bloques al azar con arreglo factorial de  $3 \times 4$  en tres repeticiones, donde el factor A es el período de estratificación y el factor B son las concentraciones de ácido giberélico; cuyo modelo fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + R_i + E_j + A_k + EA_{jk} + \epsilon_{ijk}$$

Con:

$i = 1, 2, 3, 4, 5$  Repeticiones

$j = 1, 2, 3, 4, 5$  Período de estratificación

$k = 1, 2, 3, 4$  Concentración de  $GA_3$

Donde:

$Y_{ijk}$  = Variable aleatoria observable de la  $i$ -ésima repetición con el  $j$ -ésimo tiempo de estratificación y la  $k$ -ésima concentración de  $GA_3$

$\mu$  = Media general

$R_i$  = Efecto del  $i$ -ésimo bloque

$E_j$  = Efecto del  $j$ -ésimo período de estratificación

$A_k$  = Efecto de la  $k$ -ésima concentración de  $GA_3$

$Ae_{jk}$  = Efecto conjunto del  $j$ -ésimo período de estratificación y la  $k$ -ésima concentración de  $GA_3$

$\epsilon_{ijk}$  = Error experimental

En el experimento III se utilizó un diseño con bloques al azar con arreglo factorial de 4 X 4 en tres repeticiones, donde el factor A es el período de estratificación y el factor B son las concentraciones de ácido giberélico; cuyo modelo fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + R_i + E_j + A_k + EA_{jk} + \epsilon_{ijk}$$

Con:

$i = 1, 2, 3$  Repeticiones

$j = 1, 2, 3, 4$  Período de estratificación

$k = 1, 2, 3, 4$  Concentración de  $Ga_3$

Donde:

$Y_{ijk}$  = Variable aleatoria observable de la  $i$ -ésima repetición con el  $j$ -ésimo período de estratificación y la  $k$ -ésima concentración de  $Ga_3$

$\mu$  = Media general

$R_i$  = Efecto del  $i$ -ésimo bloque

$E_j$  = Efecto del  $j$ -ésimo período de estratificación

$A_k$  = Efecto de la  $k$ -ésima concentración de  $Ga_3$

$AE_{jk}$  = Efecto conjunto del  $j$ -ésimo período de estratificación y la  $k$ -ésima concentración de  $Ga_3$

$\epsilon_{ijk}$  = Error experimental

En el experimento IV se utilizó un diseño completamente al azar con 5 tratamientos en tres repeticiones, donde el tratamiento es el tiempo de escarificación; cuyo modelo fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + C_i + E_j + \epsilon_{ijk}$$

Con:

$i = 1, 2, 3, 4, 5$  Tiempo de escarificación

$j = 1, 2, 3$  Repeticiones

Donde:

$Y_{ij}$  = Variable aleatoria observable de la  $i$ -ésima concentración con la  $j$ -ésima repetición.

$\mu$  = Media general

$C_i$  = Efecto del  $i$ -ésimo tiempo de escarificación

$\epsilon_{ij}$  = Error experimental

## **8.- Parámetros evaluados.**

La evaluación se realizó a los treinta, sesenta y noventa días después de la siembra, en los cuatro experimentos, evaluándose el por ciento de germinación.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En el presente trabajo se llevaron acabo cuatro experimentos, donde la principal variable a evaluar, fue por ciento de germinación analizándose cada uno en tres evaluaciones, a los 30, 60, y 90, días después de la siembra, para cada una de las dos diferentes especies. Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente y se encontró que existe una diferencia significativa entre las especies, como para las evaluaciones.

Es necesario mencionar que en los Experimentos I y II de la especie *Ferocactus stainesii*, se utilizaron semillas que tenían más de dos años de almacenamiento, en tanto que para los experimentos III y IV fueron recolectadas en el mismo momento cuando se realizaron los experimentos. Fueron ésta mismas condiciones para la especie *Echinocactus platyacanthus*.

### 2. *Ferocactus stainesii*

## **EXPERIMENTO I**

Utilizando una concentración normal de macroelementos, la germinación más alta registrada fue de un 14 %. En el testigo no se obtuvo germinación (Figura 1). Siendo, el factor concentración de  $H_2SO_4$  altamente significativo como se muestra en la Tabla 1; la concentración de  $H_2SO_4$  al 50 % fue superior estadísticamente (Tabla 2). Al aplicar una concentración de  $H_2SO_4$  al 20 % con los diferentes tiempos, tuvo una segunda mejor respuesta de germinación, de un 14 % para 8 y 20 min; un 12 % cuando se aplicó 16 min de escarificación, y un 2 % para 12 min; siendo uno de los mas bajos porcentajes de germinación. Cuando se aplicó una concentración al 30 % de  $H_2SO_4$  con 8 y 16 min, fue de un 4 %, para 12 min un 14 %, y para 20 min un 2 %; en tanto que, para la concentración al 40 % de  $H_2SO_4$  por 8 min y 20 min fue de 0 % y para 12 y 16 min de un 6 % de germinación.



Estos resultados pudieron ser afectados por factores externos, ya que se ha reportado que las semillas de cactáceas tienen sus propios requerimientos de germinación, esto concuerda con Pillbeam (1980), que señala, que la edad de las semillas es importante para su germinación; y en este experimento se utilizaron semillas que tenían más de dos años de almacenamiento, obteniendo bajos porcentajes de germinación pudiendo ser este factor determinante en la evaluación.

De acuerdo a un estudio realizado por Cuevas (1990), nos dice que los niveles de macroelementos son determinantes para la germinación de las semillas, ya que un medio de MS con alto contenido de sales minerales puede tener un potencial osmótico negativo que inhibe o reduce la germinación de semillas. A parte de esto, algunos elementos pueden ser tóxicos al estar presentes en altas concentraciones, afectando así la germinación.

## **EXPERIMENTO II**

Analizando el por ciento de germinación a los noventa días después de la siembra, en la Figura 2; se encontró que con 10 ppm de ácido giberélico y sin período de estratificación, se obtuvo un 13.3 % de germinación, siendo además el más alto. Registrándose, además una respuesta de germinación de 6.6 % casi generalizada para las demás concentraciones y períodos de escarificación. Estadísticamente se encontró alta significancia en el factor concentración de ácido giberélico (Tabla 3). En este mismo factor se encontró que estadísticamente las concentraciones de 0 y 10 ppm fueron las

mejores (Tabla 4). Cuando se aplicó 1000 ppm de ácido giberélico inhibió completamente la germinación, aun en los diferentes períodos de estratificación.

De acuerdo a estos resultados podríamos determinar que la aplicación de giberelinas no tuvo un efecto positivo, debido posiblemente a causa de que fueron incapaces de difundirse dentro del embrión y que la estratificación puede ayudar en alguna medida a la germinación de semillas; lo anterior concuerda con Hemmat et al. (1985). En investigaciones de Baskin y Baskin (1985), han establecido que un prolongado enfriamiento conducen a superar la latencia de las semillas. Por lo que podemos determinar que los resultados se deben a el tiempo de estratificación, que al efecto de la concentración de ácido giberélico.

### EXPERIMENTO III

En este experimento, al utilizar la escarificación al 20 % de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> por 5 min; así como un <sup>1</sup>/<sub>4</sub> de macroelementos en el medio de cultivo, como factores constantes se obtuvieron mejores resultados. En la Figura 3, los mas altos porcentajes se registraron en el testigo, con la concentración de 0 ppm de ácido giberélico y a 0 días de estratificación , obteniendo un 83.3 % de semillas germinadas, resultando estadísticamente superior con respecto a los demás (Tabla 6); encontrando además significancia en el factor concentración de ácido giberélico (Tabla 5).

Aplicando 10 ppm de ácido giberélico con 0 días de estratificación tenemos un 80 %; para la misma concentración pero con 10 días de estratificación se obtuvo un 53.3 %, con 20 días un 60 %, y de un 50 % cuando se aplicó 40 días de estratificación.

Aplicando mayores concentraciones de ácido giberélico, como 100 ppm con 0 y 40 días de estratificación, se logró el mismo porcentaje de semillas germinadas, de un 70 %, pero cuando se aplicaron solamente 10 días de estratificación se logró un 60 %, y para un período de 20 días un 53.3 %; por lo que al ir aumentando las concentraciones de ácido giberélico y períodos de estratificación los resultados en la germinación se fueron inhibiendo, excepto cuando se aplicó 20 días de estratificación logrando un 70 % de germinación.

Los resultados obtenidos en este experimento, fueron afectados por el estado fisiológico de la semilla ya que para este experimento, la semilla fue recolectada en la misma época que se utilizó, combinando la estratificación, con la técnica de escarificación química que de acuerdo con Moreno (1984) y Reyes (1993), ocasiona pequeñas aberturas en la cubierta de la semilla logrando, el crecimiento de la radícula. Por lo que con esta combinación se han obtenido mejores resultados de germinación.

Al utilizar los MS-macroelementos a  $1/4$  de su concentración no solo ha permitido también, una mayor germinación si no que la preparación de los medios sería más económica. Pudiendo ser este un factor determinante en los porcentajes de germinación en las condiciones específicas de este experimento.

## EXPERIMENTO IV

En la Figura 4 se observa que el mayor porcentaje de germinación, que se registró a los 30 días después de la siembra fue de un 83.3 % con 0 min de escarificación, resultando estadísticamente superior (Tabla 8). Un 70 % de semillas germinadas se obtuvo cuando se aplicó 10 min de escarificación, siendo también uno de los más altos. El menor porcentaje que se registró dentro de esta primera evaluación fue de 13.3 % con 40 min de escarificación. Encontrando alta significancia en el factor escarificación como se muestra en la Tabla 7.

A los 60 días después de la siembra en el análisis estadístico se encontró significancia en el mismo factor tiempo (Tabla 9), resultando los mejores 0, 5 y 10 min; teniendo como valores de germinación 93.3, 83.3 y 80 % respectivamente (Tabla 10), el mínimo fue de 56.6 % con 20 min de escarificación.

Se encontró significancia a los 90 días después de la siembra como se muestra en la Tabla 11. Estadísticamente los mejores tiempos de escarificación, fueron 0 y 5 min, con 96.6 %, un 86.6 % con 10 min (Tabla 12). Estos resultados pudieran estar altamente afectados por las características propias de semillas nuevas, como ya se explicó en el experimento III, al igual que la cantidad de macroelementos ( $1/4$  de su concentración) en el medio de cultivo y la escarificación.

Los resultados obtenidos en este experimento concuerdan con Moreno (1984) y Reyes (1993) los cuales señalan que el uso de escarificación mecánica o química, permiten la germinación.

### 3. *Echinocactus platyacanthus*

#### EXPERIMENTO I

No se registró germinación en el testigo, pero el mas alto porcentaje de semillas germinadas en éste experimento fue de 56.6 % con una concentración de  $H_2SO_4$  al 20 % y un tiempo de 8 min, como se muestra en la Figura 5. Resultando estadísticamente éste tiempo y concentración superior (Tabla 14, 15, 16 y 19). La segunda mejor respuesta de germinación que se registró, fue de 46 % con un 30 % de la concentración y 12 min de escarificación (Tabla 17). Los porcentajes restantes estuvieron por debajo del 26 % de germinación. Este se registró con 12 y 20 min de escarificación dentro de la concentración del 20 % de  $H_2SO_4$ . En tanto que, para la concentración de 50 % de

$H_2SO_4$  los resultados fueron bajos comparados con los demás, en la prueba de medias destacó el tiempo de escarificación de 8 min (Tabla 18).

Marsden (1958), señala que las semillas podrían germinar en 2 o 3 años después de colectadas, recalcando que la germinación no sería uniforme como cuando esta es fresca. Por lo que posiblemente esto, sería una causa o factor determinante en esta evaluación de germinación. Por otra parte Owen (1956), señala que la relación entre viabilidad y latencia en la semilla es de gran importancia.

Pudiera ser que los resultados obtenidos, hayan sido afectados también, por los mismos tratamientos de escarificación, ya que esta técnica deteriora o altera la testa de la semilla, pudiendo haber afectado la radícula, Moreno (1984) y Reyes (1993).

## **EXPERIMENTO II**

En la primera evaluación, a los 30 días después de la siembra, se encontró significancia en el factor concentración de ácido giberélico (Tabla 23) y se puede observar que los mejores resultados de germinación se encuentran en la concentración de 10 ppm de ácido giberélico (Figura 6), resultando estadísticamente esta concentración superior a las demás (Tabla 24), y donde el más alto valor de germinación fue de 33.3 % con 0 días de estratificación.

Se aprecia en la Figura 6, que el segundo valor mas alto fue de 26.6 % con 10 días de estratificación dentro de la concentración de 10 ppm, y en el testigo (0 días de estratificación y 0 ppm de ácido giberélico)

Se observa, que al ir aumentando la concentración de ácido giberélico, la respuesta de germinación se va inhibiendo; por ejemplo, en la concentración de 100 ppm, el efecto en el testigo (0 días de estratificación) es inhibitorio, aun cuando para el resto se mantiene en una germinación del 20 % (10 y 20 días de estratificación), y en la concentración de 1000 ppm no hay respuesta.

A los 60 días después de la siembra, se encontró que estadísticamente, el factor concentración de ácido giberélico mostró alta significancia (Tabla 25); como se observa en la Figura 7, que los más altos valores de germinación, se registraron ahora, en el testigo, donde se obtuvo un 60 % con 20 días y de un 53.3 % con 0 y 10 días de estratificación. Estadísticamente la concentración de 0 y 10 ppm fueron superiores con respecto a las demás (Tabla 26).

En la concentración de 10 ppm de ácido giberélico, se obtuvo también un 60 % de germinación con 10 días de estratificación, en cuanto a 0 días de estratificación aumento de un 33.3 % (Figura 6), a un 40 % (Figura 7). Y para 20 días de estratificación, dentro de la misma concentración (10 ppm) aumento a un 46.6 % de germinación. Al aplicar una concentración de 100 ppm se logró una germinación de 20 % para 0 y 20 días de estratificación; destacando un 26.6 % para 10 días. Y sin obtener resultados para 1000 ppm.

En la tercera evaluación a los 90 días después de la siembra, se encontró que las mejores concentraciones fueron de 0 y 10 ppm (Tabla 28). Encontrando un 73.3 % para 0 y 10 días de estratificación, en la concentración de 0 ppm y de un 33.3% para 20 días. Para la concentración de 10 ppm y con 10 días de estratificación se registró también un 73.3 %, un 60 % para 0 días y un 33.3 % para 20 días. (Figura 8). Manteniéndose en un 33.3 % de germinación, en la concentración de 100 ppm, y de 0 germinación para 1000 ppm de ácido giberélico. Estadísticamente se encontró significancia en el factor tiempo de escarificación y alta significancia en el factor concentración de ácido giberélico (Tabla 27).

De acuerdo a esto, Reyes (1993), señala que las sustancias promotoras del crecimiento son las que principalmente regulan la latencia, y por regla general el ácido abscísico es quien impone la latencia en las semillas, mientras que el ácido giberélico es quien rompe esta latencia. El efecto del ácido giberélico en estos resultados, ocasionó la inducción de la síntesis de la enzima amilasa, facilitando que el almidón pase a glucosa para ser respirada y liberar energía necesaria para el desarrollo del embrión. Actuando en combinación la estratificación, ocasionando en el embrión una decadencia de las sustancias inhibitorias y un aumento de las sustancias promotoras.





### EXPERIMENTO III

En la primera evaluación, a los 30 días después de la siembra (Figura 9), se observa, como no fue necesario el tratamiento de escarificación, ya que el valor del testigo registró un 53.3 % y sin embargo, aun con 10 días de escarificación alcanzó un 66.6 % y conforme el período de estratificación aumentó, el por ciento de germinación bajo.

En cuanto al efecto del ácido giberélico por sí solo demostró que tuvo un efecto positivo, ya que en la concentración de 10 ppm de ácido giberélico y 0 días estratificación, se registró el valor más alto de germinación que fue de 83.3 %. Dentro de esta misma concentración se observa, que cuando se le dio 10 días de estratificación este valor fue de 53.3 %, en tanto para 20 y 40 días no se tubo respuesta. Estadísticamente, el factor concentración de ácido giberélico resulto altamente significativo como se muestra en la tabla (29), y los períodos de 0 y 10 días de estratificación resultaron ser superiores a los demás (Tabla 30).

Con 100 ppm de ácido giberélico, el segundo valor mas alto se registró, con un 73.3 % y con 10 días de estratificación, con 0 días un 60 %. En cuanto a una concentración de 1000 ppm, en el testigo se presentó un 46.6 % y con un período de 10 días un 50 % para 20 días un 10 % y para 40 % no se tubo estímulo para la germinación.

En la Figura 10, se observa una mejor respuesta en la germinación, aun persistiendo, que el mejor tratamiento es solo con ácido giberélico y con la concentración de 10 ppm manteniendo un 83.3 %, y con un período de estratificación de

10 días un 70 % por lo que el ácido giberélico y la estratificación estarían actuando conjuntamente. Dentro de esta misma concentración los valores más bajos serían de 3.3 % con 40 días y 20 % con 20 días de estratificación.

En el tratamiento sin ácido giberélico, pero con y sin estratificación se logró el mismo porcentaje de germinación; de un 70 % por lo que se podría decir que no es necesaria la estratificación; ya que al ir aumentando el período de frío el porcentaje de semillas germinadas, va disminuyendo.

Sin embargo al utilizar una concentración de 100 ppm de ácido giberélico en el tratamiento sin frío se registró un 63.3 % y con 10 días un 73.3 %; en tanto que al ir aumentando el período de estratificación bajó drásticamente el porcentaje de germinación.

En la concentración de 1000 ppm de ácido giberélico, la respuesta a la germinación fue disminuyendo, ya que con 0 días se obtuvo un 63.3 %, bajo en comparación los mismos tratamientos de escarificación, sin embargo al aumentar la estratificación disminuye también la germinación a un 50 % con 10 días, un 30 % con 20 días y un 10 % con 40 días de frío. Sin embargo estadísticamente se encontró alta significancia en el factor estratificación y los períodos de tiempo de 0 y 10 días superiores con respecto a los demás (Tabla 31 y 32).

A los 90 días después de la siembra (Figura 11), se registró un mayor índice de germinación en todos los tratamientos tanto de ácido giberélico como de estratificación,

y encontrando alta significancia en los dos factores (Tabla 33), en cuanto a los tratamientos, las concentraciones de ácido giberélico de 0 y 10 ppm fueron mejores que el resto, y el período de estratificación de 0 y 10 días fueron mejores que las demás (Tabla 34 y 35).

Se sigue manteniendo superior el porcentaje de germinación para la concentración de 10 ppm de ácido giberélico combinada con 0 días de estratificación con respecto a la demás. Sin embargo en el testigo (0 ppm y 0 días de estratificación), se registro un valor de 93.3% de semillas germinadas; por lo que se tiene que estudiar que ventajas tiene este resultado en comparación al anterior, ya que sería en este caso, solo tiempo.

En el resultado acumulativo, se obtuvo un aumento en el por ciento de germinación; el efecto de la aplicación de ácido giberélico logró que se desencadenarán una serie de reacciones químicas, haciendo que el embrión tuviera suficiente energía para su desarrollo, esto concuerda con Overbeek, 1968. Estos resultados se debieron en parte a la edad de la semilla y al efecto del ácido giberélico. El tratamiento de estratificación, estimuló en alguna medida a la germinación pronta y uniforme de la semilla permitiendo cambios fisiológicos en el embrión (Hartmann y Kester, 1985); propiciando también, un alto porcentaje en la germinación.









## EXPERIMENTO IV

Para este experimento en las tres evaluaciones no se encontró significancia en el factor tiempo de escarificación como se muestran en las Tablas 36, 37 y 38.

De acuerdo a la Figura 12, encontramos que en la primera evaluación a los 30 días después de la siembra el mejor tiempo de escarificación fue de 40 min, teniendo un 80 % de germinación en la segunda evaluación, a los 60 días después de la siembra, los mejores tiempos fueron de 0 y 5 min alcanzando un 93.3 % y 96.6 % de semillas germinadas. En los resultados acumulativos, a los 90 días después de la siembra, muestra un mayor porcentaje de germinación, en el tiempos de 0 min y manteniéndose, para 5 min de escarificación, registrándose en ambos un 96.6 % de semillas germinadas.

De acuerdo a Hartmann y Kester (1985) la escarificación tiene como objeto modificar los tegumentos duros o impermeables de las semillas. El remojo en ácido sulfúrico es un método efectivo para lograrlo. Sin embargo al utilizar semillas nuevas, se logró observar, que mas que el efecto de la escarificación, dentro del metabolismo general de la semilla, el nivel de inhibidores y promotores estuvo a favor de los promotores de germinación.

## CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo para las especies *Ferocactus stainesii* (Hook) y *Echinocactus platyacanthus* Link & Otto, podemos concluir lo siguiente.

4. En el experimento I y II de ambas especies, las semillas no llegaron a germinar, aun cuando las condiciones fueron propicias, por un factor que he considerado como fundamental, la edad de la semilla; en dichos experimentos se utilizaron semillas que tenían un largo período de almacenamiento, causando posiblemente desecación o deshidratación, por lo que este factor fue determinante, en los bajos porcentajes de germinación.
5. La escarificación química es fundamental para las especies cactáceas; cuando se trata de semillas con 1 año máximo de edad, recomendando la concentración de un 20 % de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y con un tiempo de escarificación de 5 min. Pudiera no ser necesaria, como se determinó en los experimentos III y IV, donde la semilla tenía días de recolectada.
6. La aplicación de ácido giberélico, no tuvo efecto positivo; se observa que las mejores respuestas de germinación se obtuvieron con una concentración de 0 y 10 ppm. Al ir aumentando la concentración de este, se observó una clara inhibición. Esto se debe posiblemente, a que las giberelinas fueron incapaces de difundirse dentro del embrión.
7. La estratificación puede ayudar en alguna medida a la germinación de las semillas. Los resultados obtenidos con respecto al por ciento de germinación son determinados, en mayor medida, a el tiempo de estratificación que al efecto de la concentración de ácido giberélico, esto en el experimento II.

8. En los experimentos III y IV, los resultados obtenidos, fueron en parte, al uso de semilla de reciente colecta. Cuando se trata de semilla nueva, la cantidad de agua existente dentro de ella , no ha sufrido deshidratación alguna, esto permite que no entre en un estado de latencia, por lo que el ácido giberélico y la estratificación no tienen un efecto positivo, reafirmando que no es necesario tratamiento alguno.
  
9. La cantidad de macroelementos es esencial, ya que los mejores resultados fueron obtenidos en los experimentos III y IV de ambas especies, en las que se usó  $\frac{1}{4}$  de su concentración; resultando por consecuencia que la propagación de las especies cactáceas sea más económica.

Previendo con esta técnica de propagación *in vitro* una inmejorable oportunidad para la propagación masiva de las especies cactáceas como *Ferocactus stainesii* (Hook), y en peligro de extinción, como *Echinocactus platyacanthus* (Link & Otto).

## LITERATURA CITADA.

- Amen, R. D. 1963.** The concept of seed dormancy. *American Scientist*. 51: 408-424.
- Arias, I., y L. Lemus. 1984.** Interacción de luz, temperatura y plant hormones in the germination of seeds of *Melocactus caesius* Went. (Cactaceae). *Acta Científica Venezolana* 35: 151-155.
- Ault, J. R. and W. J. Blackmon. 1985.** *In vitro* propagation of selected native cacti species. *HortScience* 20: (3): 541 (Abstr.).
- 
- \_\_\_\_\_ **1987.** *In vitro* propagation of *Ferocactus acanthodes* (Cactaceae). *HortScience* 22: (1): 126-127.
- Avolio, M. 1982.** Seed-raising under sterile conditions. *The Cactus and Succulent Society of Great Britain*. 44: (2): 44-45.
- Barbour, M. G., Burk J. H. and W. D. Pitts. 1987.** *Terrestrial Plant Ecology*. 2nd. Ed. The Benjamin-Cummings Publ., Co.
- Barton, L. V. 1961.** *Seed Prevention and Longevity*. Leonard Hill, London.
- Bewley, J. D. and M. Black. 1982.** *Physiology and Biochemistry of Seeds in Relation to Germination*. Vol. 2 Viability, Dormancy and Environmental Control. Springer-Verlag, Berlín, New York.
- Bidwell, R. G. S. 1979.** *Fisiología Vegetal*. Primera Edición en español. A. G. T. Editor, S. A. México. México, D. F.
- Bravo, Hollis. Helia. 1978.** *Las Cactáceas de México* 2da Ed., Editorial Universidad Autónoma de México. México, D. F.

- Colomas, J. 1971.** Obtention de cultures de tissus a partir de fragments de *Pachycereus pringlei* (S. Wats.) Br. et. R. C. R. *Acad. Sci. (Paris)* 272: 1380-1382.
- Comé, D. 1980, 1981.** Problems of embryonal dormancy as exemplified by apple embryo. *Israel Jour. Bot.* 29: 145- 57.
- Corona, N. E. V. y Mauel, Chávez-Ávila. 1982.** Cultivo de Cactáceas en Medios Asépticos. *Cact. Suc. Méx.* XXVII. págs. 17- 22.
- Delouche, C. J. 1965.** A preliminary study of methods of separating crimson clover seed on basis of viability. *Poc. Asosoc. Off. Seed Anal.* 55: 30- 36.
- Esau, K. 1976.** Anatomía Vegetal. H. Blume. Tercera Edición. Editorial Omega. Barcelona España.
- Fearn, B. 1981.** Seed germination; the modern approach. *The Cactus and Succulent Journal of Great Britain.* 43: (1): 13- 16.
- Fearn, B. 1974.** An investigation into the effect of temperature on the seed germination of nine species of cacti using thermal gradient bars. *Cact. Succ. J. Amer.* 46: 215- 19.
- \_\_\_\_\_ **1981.** Seed germination: the modern approach. *The Cactus and Succulent Journal of Great Britain.* 43: (1): 13- 16.
- Fitz Maurice, B. 1989.** A system of seed propagation for cacti. *Cact. Succ. J. (U. S.)* 61: 14- 16.
- George, E. F. 1993.** Plant Propagation by Tissue Culture. Part 1 The technology 2<sup>nd</sup> ed.
- Graham, V. 1987.** Growing Succulent Plants. Timber Press, Portland, Oregon.

- Haberlandt, G. 1902.** "Kuitinversuche mit isolierten pflanzellerr Sber". Acad. Wiss  
Wien. III: 69-92. In *Plant tissue and cell culture*, Street, H. E., Second edition,  
Academic Press., U. S. A., 1- 10, 1977.
- Harper, P. H., Lovell G. and K. G. Moore. 1970.** The shapes and sizes of seeds. *Ann.  
Rev. Ecol. & Syst.* 5: 419- 63.
- Harrington, F. 1970.** Seed and pollen storage for conservation of plant gene resources.  
In Frankel, O. H. and Bennett, E. (Eds.), I.B.P. Handbook No. 11, Davis,  
Philadelphia.
- Harrington, H. A. 1980.** The need for protection of our native cacti. *Cactus and  
Succulent Journal.* Vol. 52: 224- 226.
- Hartmann. T. and D. E. Kester. 1980.** Propagación de plantas, Principios y Prácticas.  
2<sup>nd</sup> Ed. Editorial Continental, S. A., México, D. F.
- Haustein, E. 1988.** The Cactus Handbook. Chartwell Books, Secaucus, New Jersey.
- Heras, Cuevas Marco G. 1990.** Germinación y cultivo de tejidos de especies cactáceas  
*In vitro*. Tesis de Licenciatura. Saltillo, Coah. México.
- Hisajima, S. 1982.** multiple shoot formation from almond and an excised single shoot.  
*Agric. Biol. Chem.* 46, 1091- 1093.
- Hollings, M. 1965.** Disease control through virus free stock. *Ann. Rev. of Phytopath.* 3:  
367- 396.
- Hurtado, M. D. V. y M. E. Merino. 1991.** Cultivo de Tejidos Vegetales. Segunda  
reimpresión. Editorial Trillas. México.
- Johnson, J. L. and E. R. Emino 1977.** Tissue culture propagation of *Opuntia  
polyacantha* as influenced by plant growth regulators. *HortScience* 12: 239.

- \_\_\_\_\_ **1977a.** Tissue propagation of *Mammillaria elongata* as influenced by plant growth regulators. 12: 239.
- \_\_\_\_\_ **1979a.** Tissue culture propagation in the cactaceae. *Cactus and Succulent Journal* (U. S.). Vol.51: 275- 277.
- \_\_\_\_\_ **1979b.** *In vitro* propagation of *Mammillaria elongata*. *HortScience* 14: (5): 605- 606.
- Khan, A. A. 1977.** In “The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination”. (A. A. Khan ed.) pp. 29- 50 North Holland Publishing Co. Amsterdam.
- \_\_\_\_\_ **1980- 1981.** Hormonal regulation of primary and secondary dormancy. *Israel Jour. Bot.* 29: 207- 24.
- King, R. M. 1957.** Studies in the tissue culture of cacti. *Cactus and Succulent Journal* (U. S.) 29: 102- 104.
- Kolar, Z., Bárck J. and B. Vyskot, 1976.** Vegetative propagation of the cactus *Mammillaria woodsii* Craig through tissue cultures. *Experientia* 32: 668- 669
- Koller, D. 1957.** Germination regulating mechanisms in some desert seed 4, *Atriplex dimorphostegia*. In *Ecol.* 38: 1.
- Marsden, C. 1958.** *Grow Cacti. A practical Handbook.* Second Edition. Cleaver-Hume Press Ltd. London.
- Mauseth, D. J. 1977.** Cactus tissue culture: A potential method of propagation. *Cactus and Succulent Journal* (U. S.) 49: 80- 81.
- \_\_\_\_\_ **1979.** A new method for the propagation of cacti: sterile culture of axillary buds. *Cactus and Succulent Journal* (U. S. ). vol. 51: 186- 187.

- \_\_\_\_\_ and **W. Halperin. 1975.** Hormonal control of organogenesis in *Opuntia polyacantha* (Cactaceae). *Amer. J. Bot.* 62: 869- 877.
- Minocha, S. C. and P. N. Mehra. 1974.** Nutritional and morphogenetic investigation on callus cultures of *Neomamillaria prolifera* Miller (Cactaceae). *Amer. J. Bot.* 61: 168- 173.
- Mirinskii, V. 1985.** Nota sobre un nuevo método para germinar semillas de cactus. *Cact. Suc. Méx.* Tomo XXX. No. 3:65- 66.
- Murashige, T. 1974.** Plant propagation through tissue culture. *Ann. Rev Plant Phy.*, 25: 135- 166.
- \_\_\_\_\_ and **F. Skoog. 1962.** A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue culture. *Phy. Plant.* 15: 473- 497.
- Nava, N. V. y A. M. Chavéz. 1982.** Cultivo de cactáceas en medios asépticos. *Cact. Suc. Méx.* Tomo XXVII No. 1.
- Nitsch, J. P. 1951.** Action du jus de tomate sur la croissance des tissus de crow-gall cultivés *in vitro*. *C. R. Acad. Sci.* (Paris).
- Novelli, M. and M. Miregalli. 1982.** Germination of excised embryos. *The Cactus and Succulent Journal of Great Britain* Vol. 44: (3): 68- 69.
- Owen, E. B., 1956.** The Storage of Seeds for the Maintenance of Viability. Commonwealth Agric. Bureau, Farnham Royal, England
- Pilbeam, J. 1980.** Seed raising. *The Cactus and Succulent Journal of Great Britain* Vol. 42: (2): 55- 56.
- Pollock, B. M. y V. K. Toole. 1962.** Postmaduración, período de reposo y latencia. En *Semillas*. U. S. D. A. (De.) Cía. De. Cont., S. A. México. 201- 212.

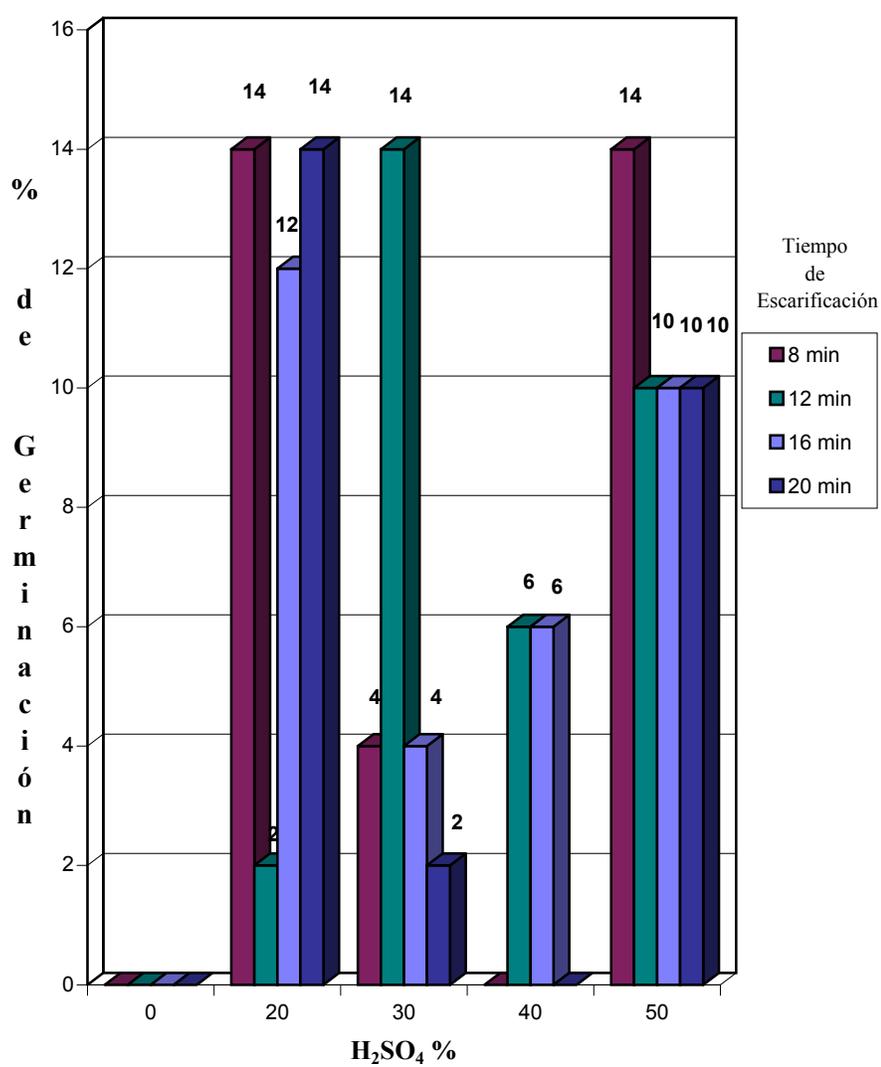
- Pérez, L. H. 1990.** Efectos de los bioestimulantes Biozyme T. S. y Biozyme P. P., sobre la emergencia y principios de desarrollo en Maíz (*Zea mays*), Frijol (*Phaseolus vulgaris*) y Trigo (*Triticum aestivum*). Tesis de Licenciatura. A. A. A. N. Saltillo, Coah. México.
- Pierik, R. L. M. 1990.** Cultivo *In vitro* de las plantas superiores. Department of Horticulture, Agricultural University Wageningen, The Netherlands. Ediciones Mundi-Prensa. Third De. Spain.
- Quak, F. 1977.** “Meristem culture and virus-free plants”, en *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, De. Reinert, J. y Bajaj, Y. P. S., Spring-Verlag, Berlín, Págs. 598- 615.
- Rabenda, Ian. 1990.** Breaking dormancy in cactus seed. Part. 1. *Cactus and Succulent Journal* (U. S.). Vol. 62: 86- 94.
- Rappaport, J. 1954.** *In vitro* culture of plant embryos and factors controlling their growth. *Bot. Rev.* 20: 201- 225.
- Rivas, G. M. 1981.** Notas sobre transplantes de plántulas de cactus. *Cact. Suc. Méx.* Tomo XXVI Vol. 3.
- Roberts, E. H. 1972.** *Viability of Seeds.* Chapman and Hall, London; England. p. p. 448.
- Reyes, R. P. de M. 1993.** Latencia de semillas: Mecanismos de control y métodos de rompimiento. Monografía de Licenciatura. U. A. A. A. N. Saltillo, Coah. México.
- Rojas, G. M. y R. H. Ramírez. 1987.** *Control Hormonal del Desarrollo de las Plantas.* De. LIMUSA. S. A. de C. V. México, D. F. p. p. 81.

- Sachar, R. C. and R. D. Iyer. 1959.** Effect of auxin, kinetin and gibberellin on the placental tissue of *Opuntia dillenii* Haw. cultured *in vitro*. *Phytomorph.* 9: 1- 3.
- Schopmeyer, C. S., DE. 1974.** Seeds of Woody Plants in the United States. U. S. D. A. Handbook No. 450 Washington, D. C.: U. S. Govt.
- Steinhart, C. E. 1962.** Tissue cultures of a cactus. *Science* 137: 545- 546.
- Street, H. E. 1977.** *Plant tissue and Cell Culture*, Sec. De. Academic Press., U. S. A., 1- 10.
- Sussman, A. S. and H. O. Halvorson. 1966.** “Spores: Their Dormancy and Germination” Harper, New York.
- Tevis, L., 1958.** Germination and growth of ephemerals induced by sprinkling a sandy desert. *Ecol.* 39: 681.
- Thompson, P. A. 1970.** Characterization of the germination response to temperature of species and eco-types. In *ibid.* 225: 827.
- United States Department of Agriculture. 1952.** Manual for Testing Agricultural and Vegetable Seeds. U. S. D. A. Agr., Handbook No. 30 Washington, D. C. Govt. Printing Office.
- Villiers, T. A. 1972.** Seed dormancy. In *Seed Biology*. Kozlowski, T. T. (ed.). London, New York Academic Press. Vol. II pp. 220- 82.
- Walkey, D. G. A. 1978.** “*In vitro* methods for virus elimination”, en *Frontiers of Plant Tissue Culture*, De. por Thorpe, T. A., Págs 245- 254.
- Yeoman, M. M. and A. J. Macleod. 1977.** Tissue (Callus) cultures-techniques, In *Plant Tissue and Cell Culture*, Ed. H. E., Street; Press, U. S. A. págs. 31- 59.

# **APENDICE**

## Feroactus staninesii

Exp I	90 días			
	8 min	12 min	16 min	20 min
0	0	0	0	0
20	14	2	12	14
30	4	14	4	2
40	0	6	6	0
50	14	10	10	10

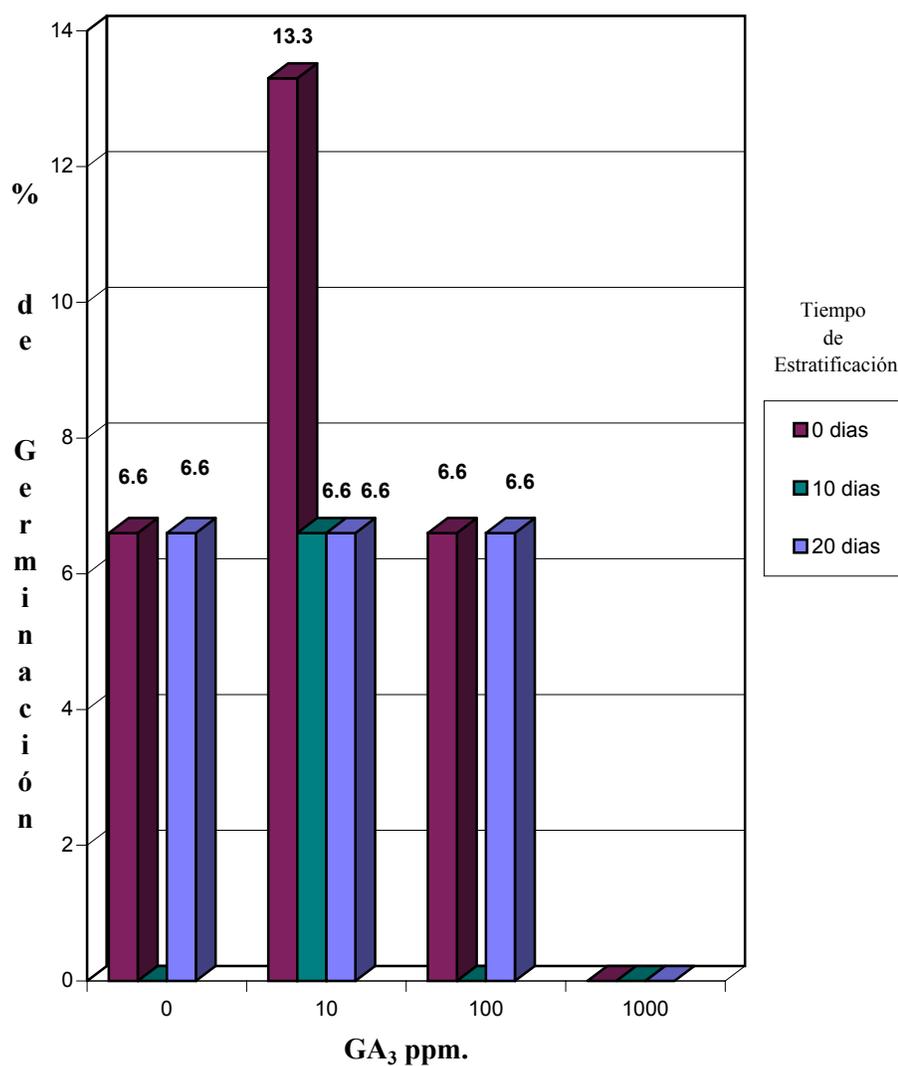


**FIG. 1** Efecto de la escarificación con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a varias concentraciones y por diferentes tiempos, sobre

la germinación de semillas de *Ferocactus stainesii*  
a los 90 días después de la siembra.

## Feroactus staninesii

Exp II	90 días			
	0 días	10 días	20 días	
0	6.6	0	6.6	
10	13.3	6.6	6.6	
100	6.6	0	6.6	
1000	0	0	0	

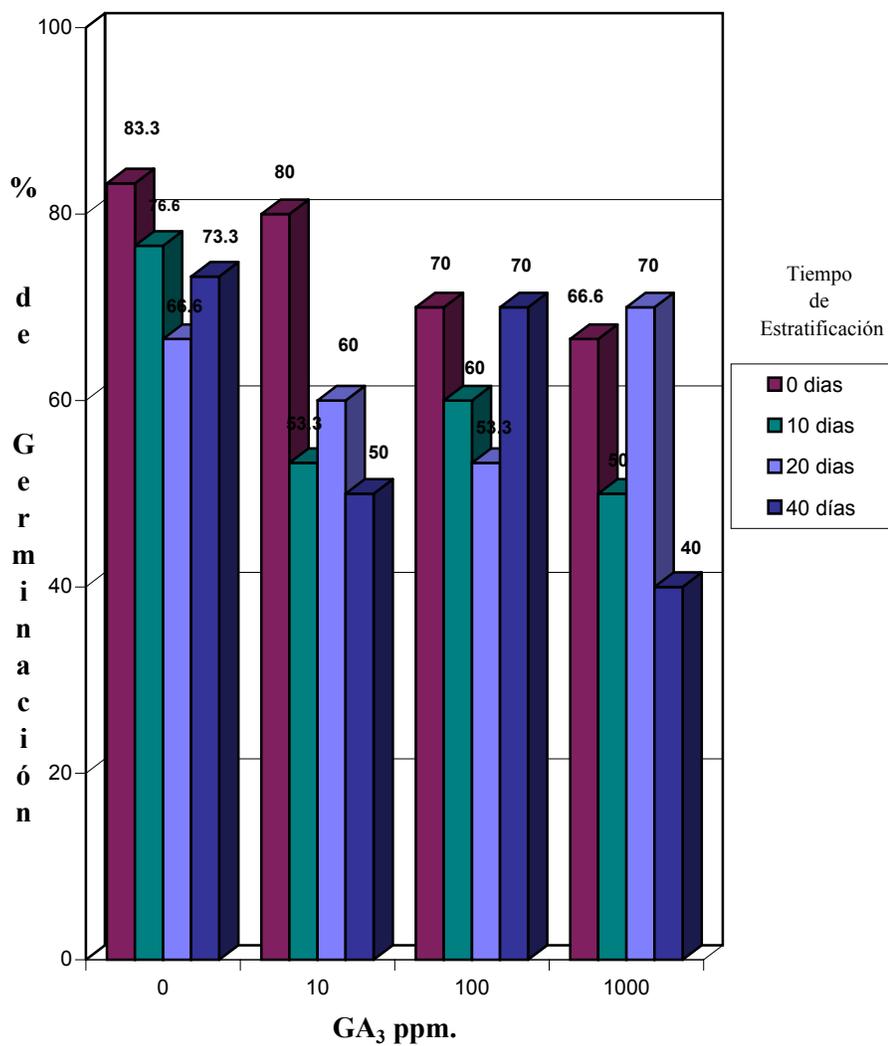


**FIG. 2** Efecto de la GA<sub>3</sub> y la Estratificación por diferentes tiempos, sobre la germinación de semillas de la especie *Ferocactus stainesii*, 90 días después de la siembra.



## Feroactus staninesii

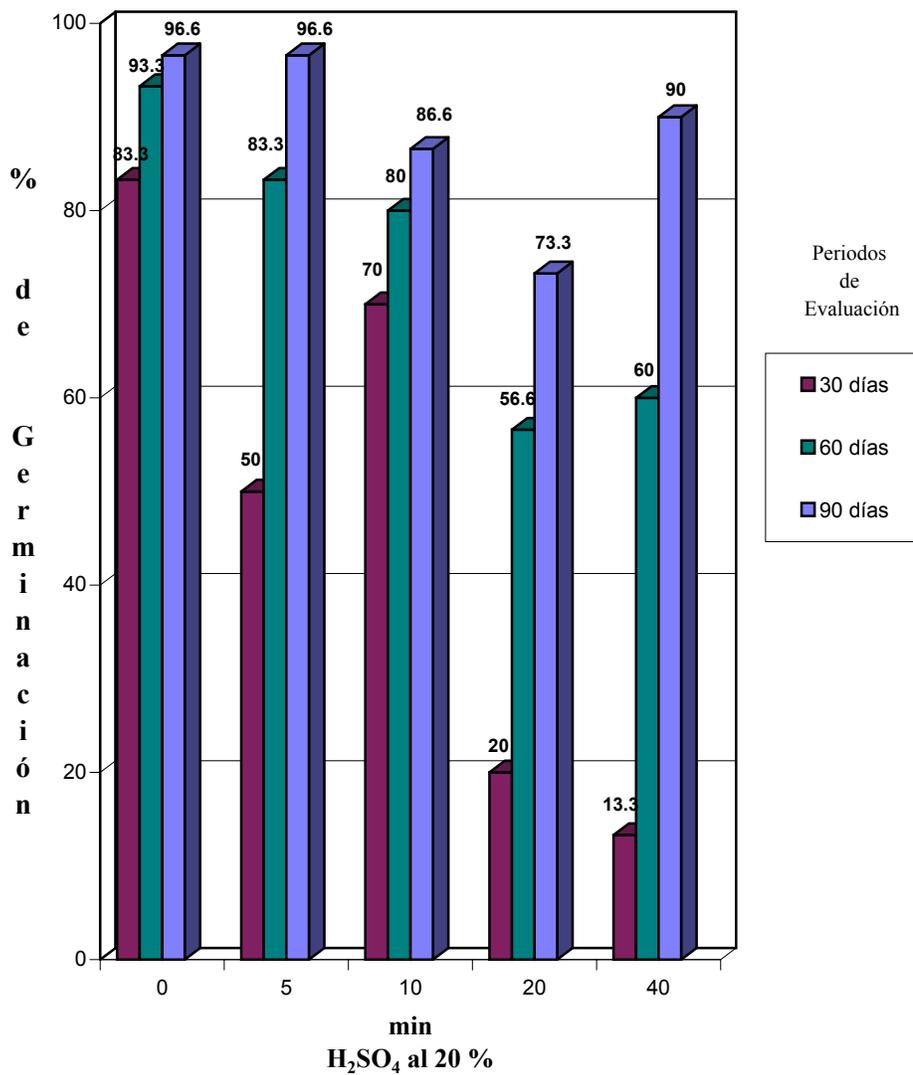
Exp III	90 días			
	0 días	10 días	20 días	40 días
0	83.3	76.6	66.6	73.3
10	80	53.3	60	50
100	70	60	53.3	70
1000	66.6	50	70	40



**FIG. 3** Efecto de la GA<sub>3</sub> y la Estratificación por diferentes tiempos, sobre la germinación de semillas de la especie *Ferocactus stainesii*, 90 días después de la siembra.

## Feroactus staninesii

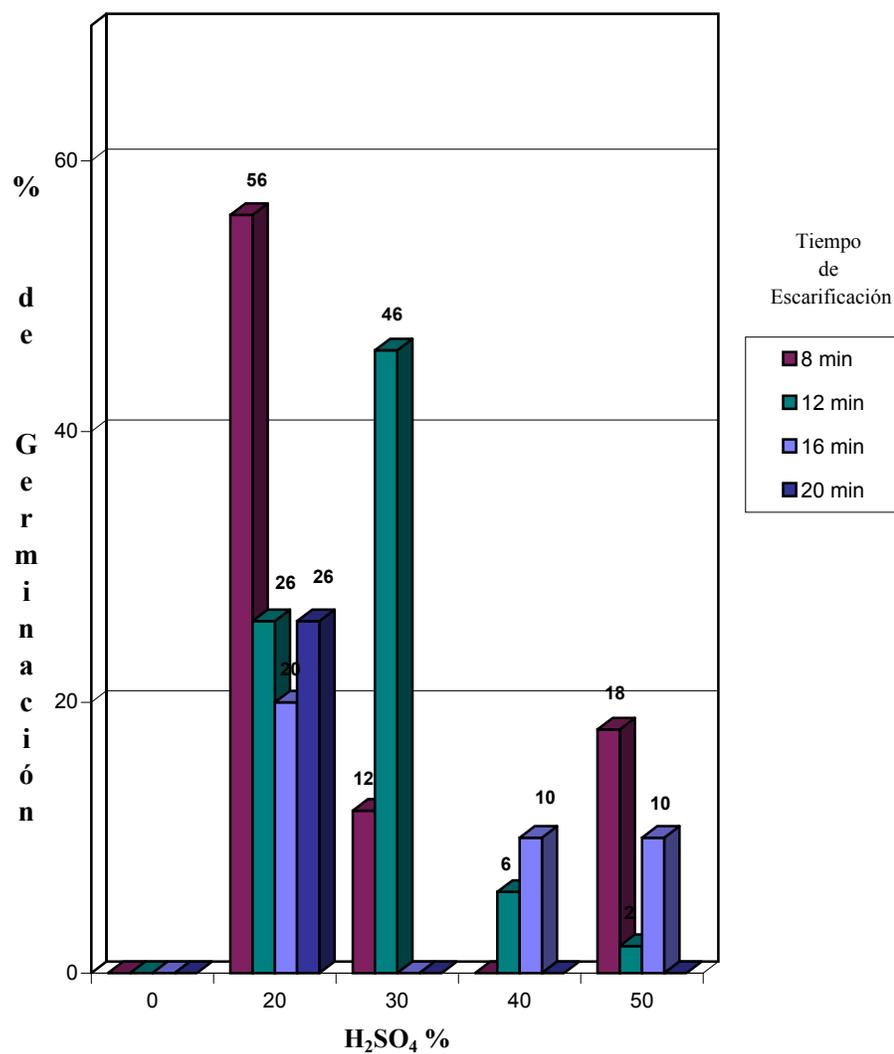
Exp IV				
	30 días	60 días	90 días	
0	83.3	93.3	96.6	
5	50	83.3	96.6	
10	70	80	86.6	
20	20	56.6	73.3	
40	13.3	60	90	



**FIG. 4** Efecto de la escarificación al 20% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> por diferentes tiempos, sobre la germinación de *Ferocactus stainesii* a los 30, 60 y 90 días después de la siembra.

## Feroactus staninesii

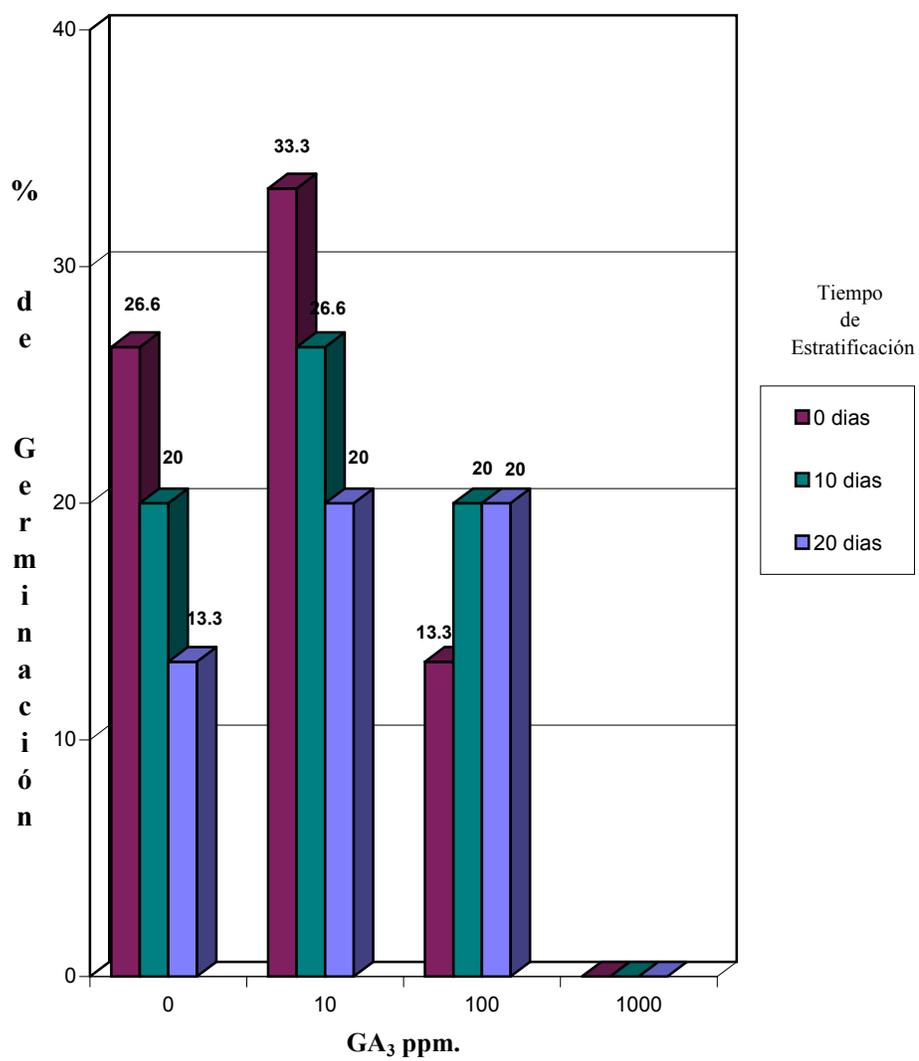
Exp I	90 días			
	8 min	12 min	16 min	20 min
0	0	0	0	0
20	56	26	20	26
30	12	46	0	0
40	0	6	10	0
50	18	2	10	0



**FIG. 5** Efecto de la escarificación con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a varias concentraciones y por diferentes tiempos, sobre la germinación de semillas de *Echinocactus platyacanthus* a los 90 días después de la siembra.

## Feroactus staninesii

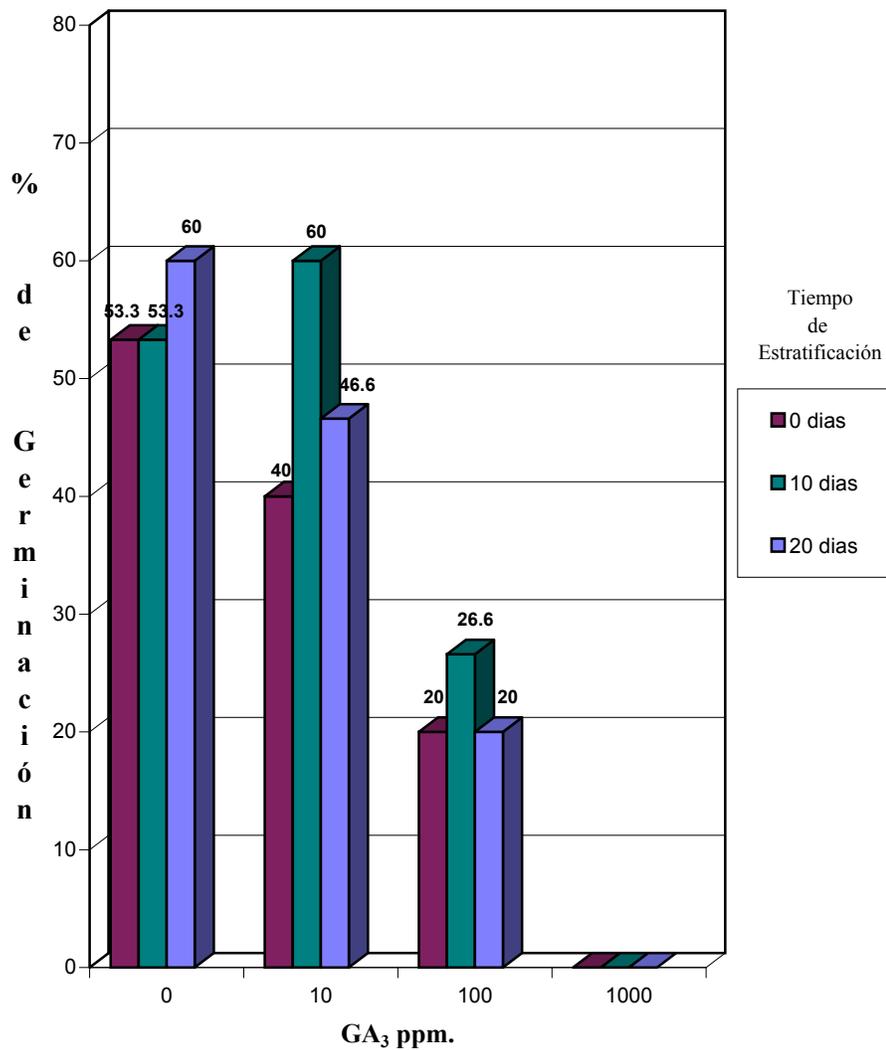
Exp II	30 días			
	0 días	10 días	20 días	
0	26.6	20	13.3	
10	33.3	26.6	20	
100	13.3	20	20	
1000	0	0	0	



**FIG. 6** Efecto de la GA<sub>3</sub> y la Estratificación por diferentes tiempos, sobre la germinación de semillas, de la especie *Echinocactus platyacanthus*, 30 días después de la siembra.

## Feroactus staninesii

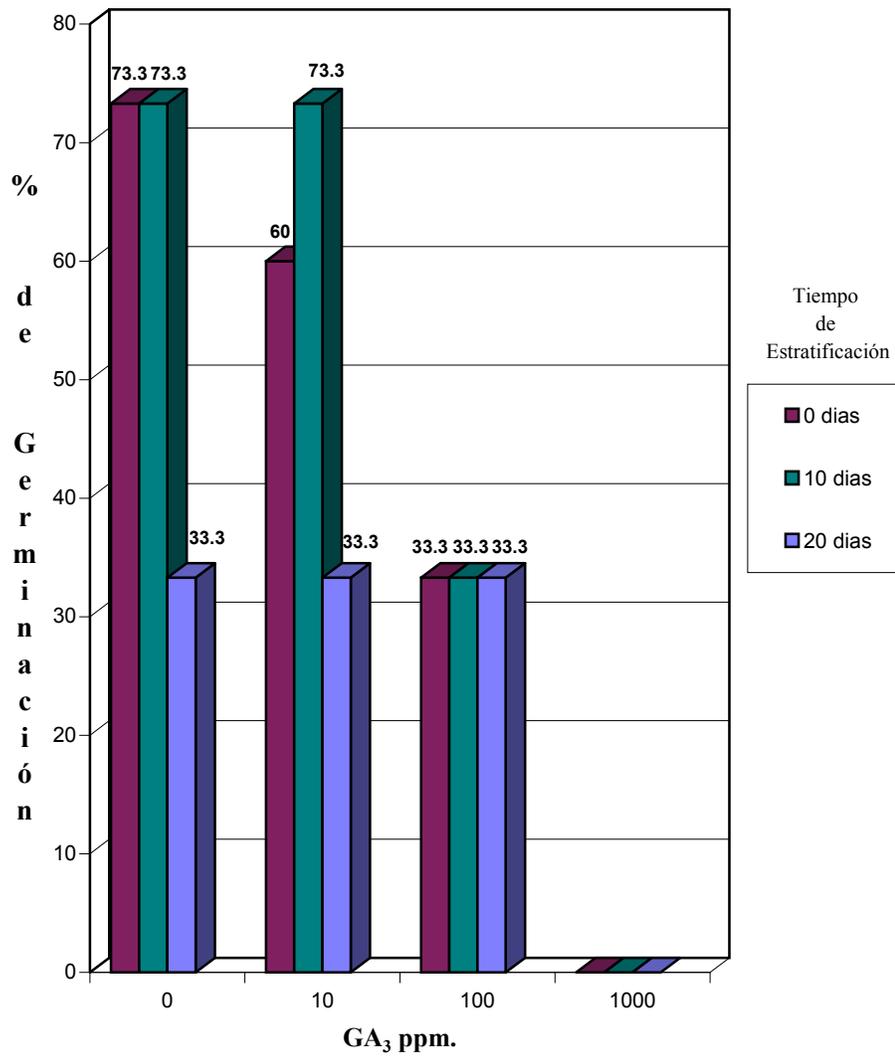
Exp II	60 días		
	0 días	10 días	20 días
0	53.3	53.3	60
10	40	60	46.6
100	20	26.6	20
1000	0	0	0



**FIG. 7** Efecto de la GA<sub>3</sub> y la Estratificación por diferentes tiempos, sobre la germinación de semillas, de la especie *Echinocactus platyacanthus*, 60 días después de la siembra.

## Feroactus staninesii

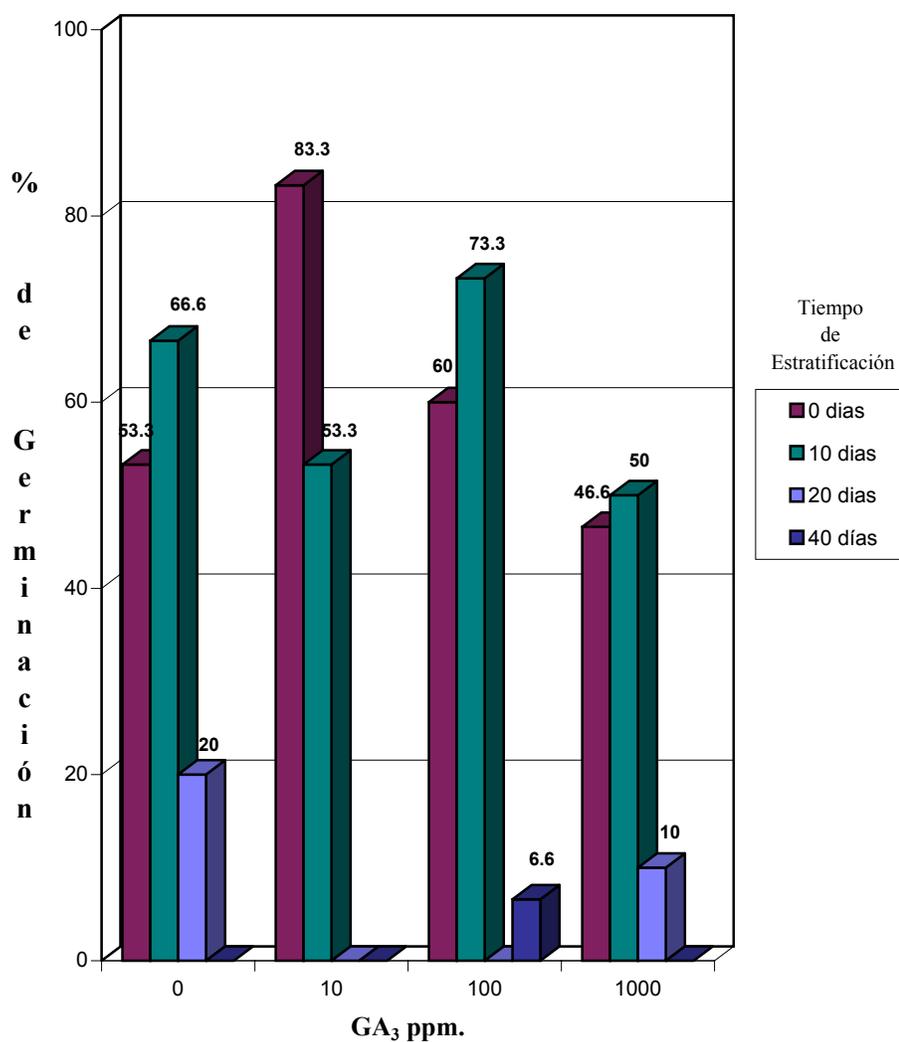
Exp II	90 días			
	0 días	10 días	20 días	
0	73.3	73.3	33.3	
10	60	73.3	33.3	
100	33.3	33.3	33.3	
1000	0	0	0	



**FIG. 8** Efecto de la GA<sub>3</sub> y la Estratificación por diferentes tiempos, sobre la germinación de semillas, de la especie *Echinocactus platyacanthus*, 90 días después de la siembra.

## Feroactus staninesii

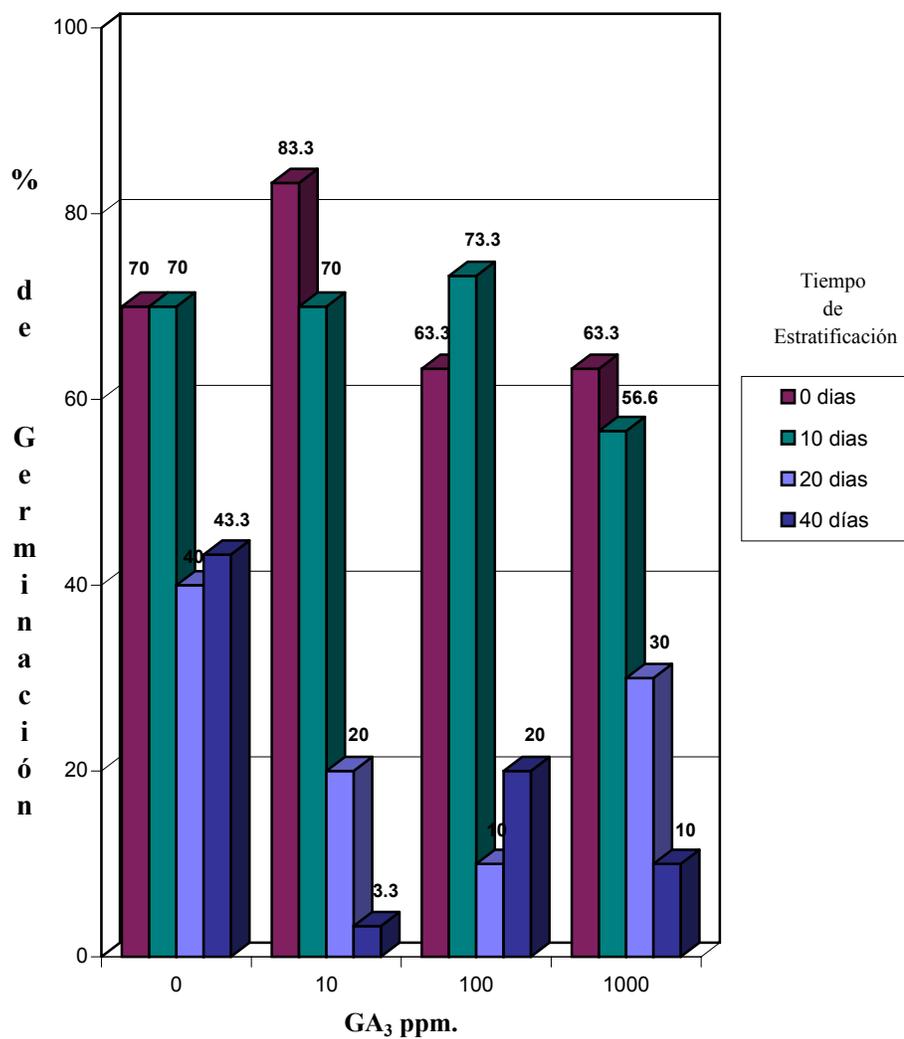
Exp III	30 días			
	0 días	10 días	20 días	40 días
0	53.3	66.6	20	0
10	83.3	53.3	0	0
100	60	73.3	0	6.6
1000	46.6	50	10	0



**FIG. 9** Efecto de la GA<sub>3</sub> y la Estratificación por diferentes tiempos, sobre la germinación de semillas de la especie *Echinocactus platyacanthus*, 30 días después de la siembra.

## Feroactus staninesii

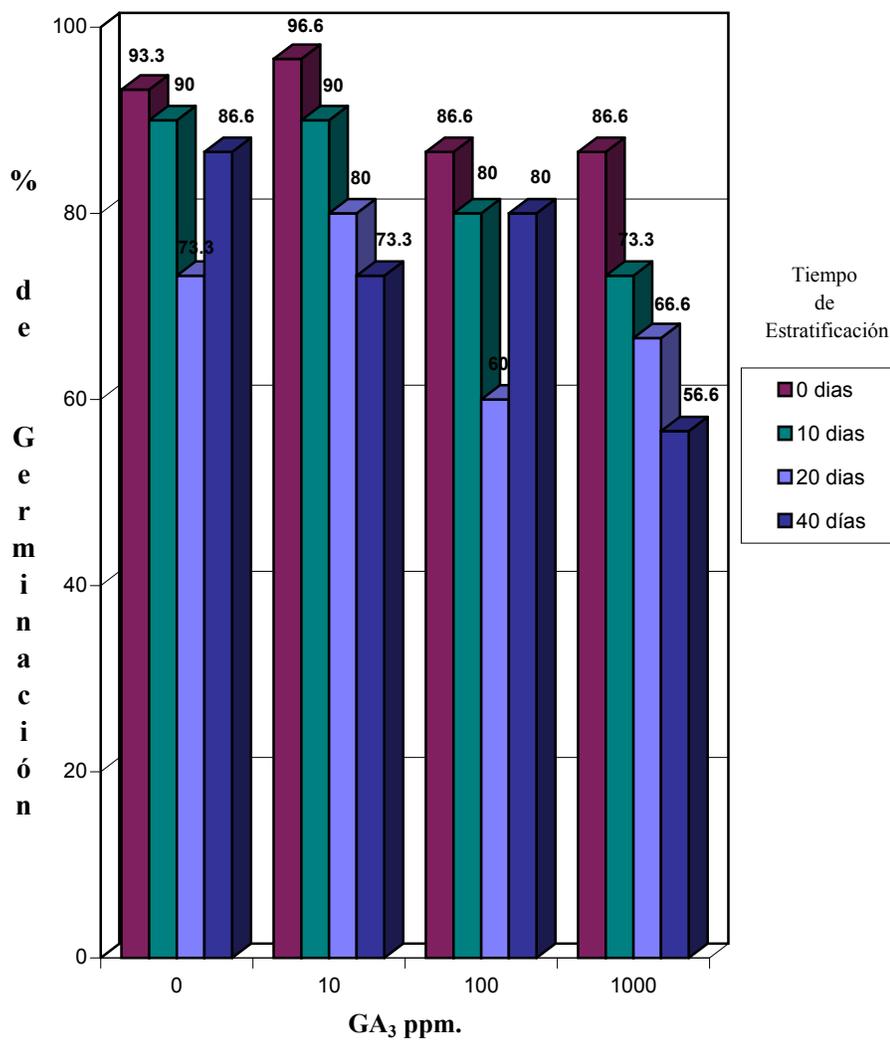
Exp III	60 días			
	0 días	10 días	20 días	40 días
0	70	70	40	43.3
10	83.3	70	20	3.3
100	63.3	73.3	10	20
1000	63.3	56.6	30	10



**FIG. 10** Efecto de la GA<sub>3</sub> y la Estratificación por diferentes tiempos, sobre la germinación de semillas de la especie *Echinocactus platyacanthus*, 60 días después de la siembra.

## Ferocactus staninesii

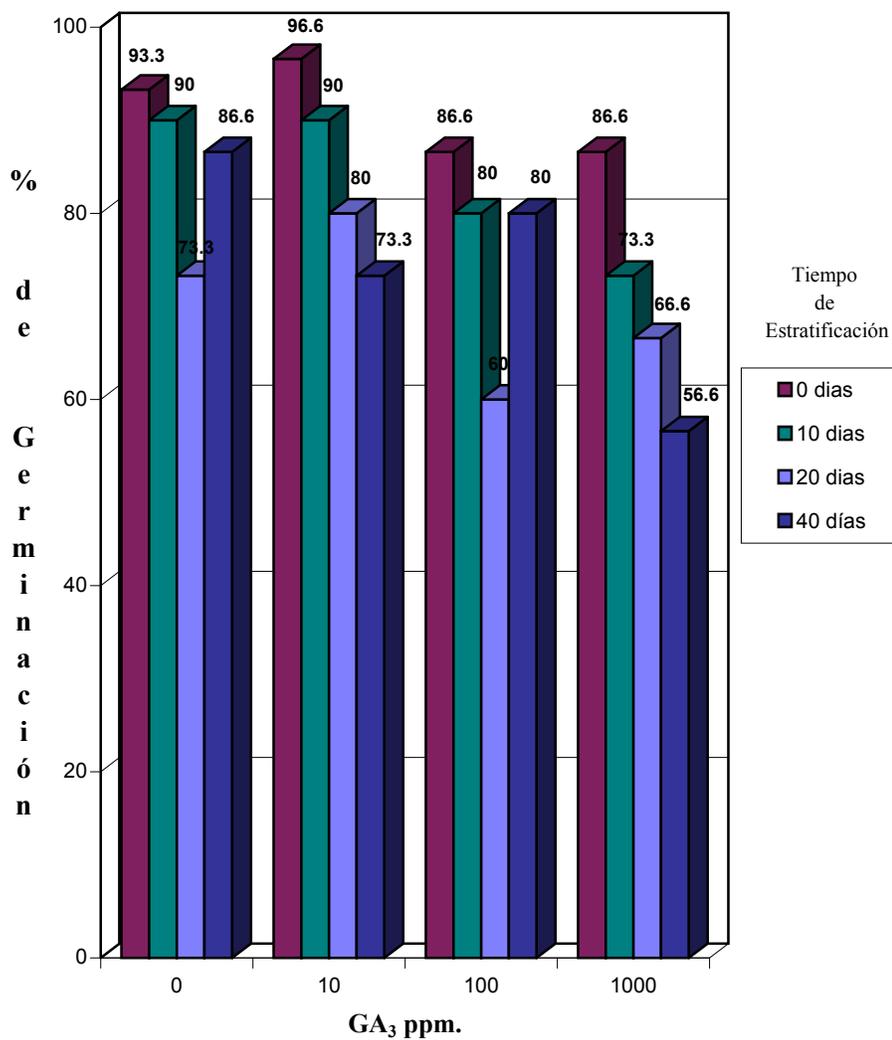
Exp III	90 días			
	0 días	10 días	20 días	40 días
0	93.3	90	73.3	86.6
10	96.6	90	80	73.3
100	86.6	80	60	80
1000	86.6	73.3	66.6	56.6



**FIG. 11** Efecto de la GA<sub>3</sub> y la Estratificación por diferentes tiempos, sobre la germinación de semillas de la especie *Echinocactus platyacanthus*, 90 días después de la siembra.

## Ferocactus staninesii

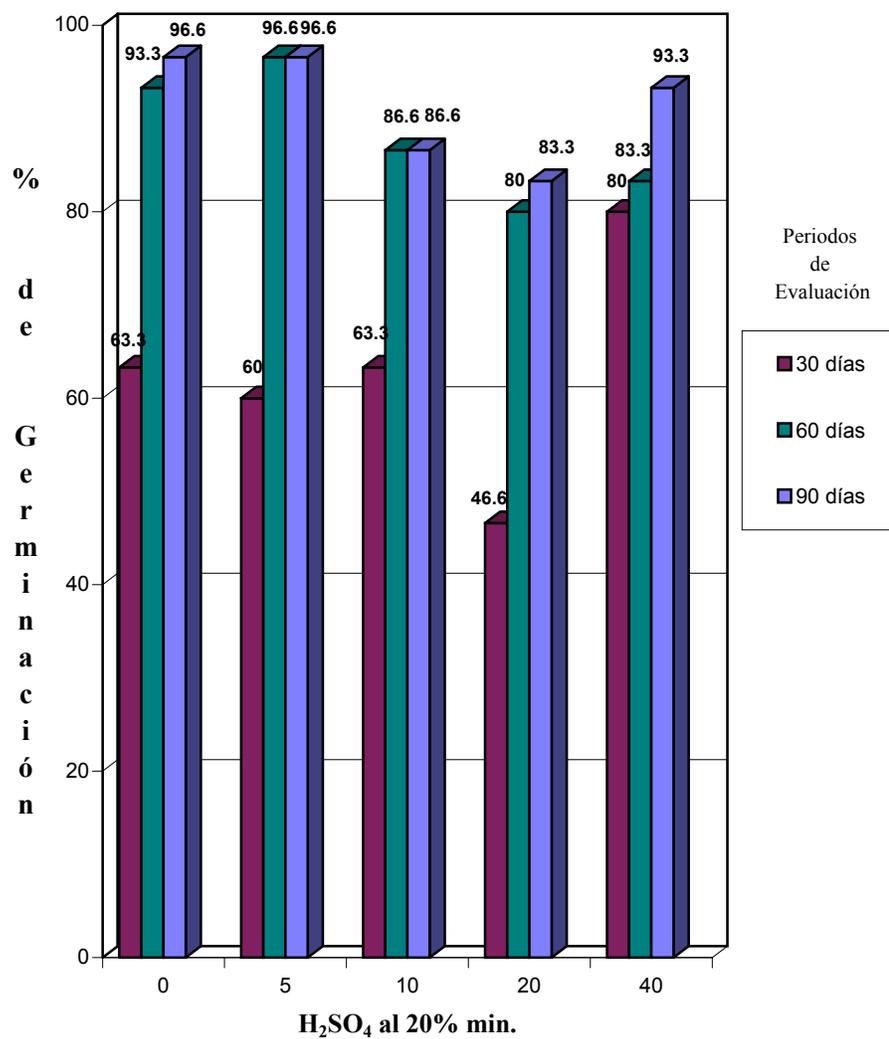
Exp III	90 días			
	0 días	10 días	20 días	40 días
0	93.3	90	73.3	86.6
10	96.6	90	80	73.3
100	86.6	80	60	80
1000	86.6	73.3	66.6	56.6



**FIG. 11** Efecto de la GA<sub>3</sub> y la Estratificación por diferentes tiempos, sobre la germinación de semillas de la especie *Echinocactus platyacanthus*, 90 días después de la siembra.

## Feroactus staninesii

Exp IV				
	30 días	60 días	90 días	
0	63.3	93.3	96.6	
5	60	96.6	96.6	
10	63.3	86.6	86.6	
20	46.6	80	83.3	
40	80	83.3	93.3	



**FIG. 12** Efecto de la escarificación al 20% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> por diferentes tiempos, sobre la germinación de *Echinocactus platyacanthus* a los 30, 60 y 90 días después de la siembra.