

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



Aclimatización de *Mammillaria plumosa* propagada *in vitro*

Por:

EVELYN ELENA CASTAÑEDA SALCIDO

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para

Obtener el Título de:

Ingeniero en Agrobiología

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Diciembre 2004

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Aclimatización de *Mammillaria plumosa* Propagada *in vitro*

Por:

EVELYN ELENA CASTAÑEDA SALCIDO

Que somete a consideración del H. Jurado examinador como requisito parcial para
obtener el título de:

Ingeniero en Agrobiología

Aprobada por:

MC. Leticia Escobedo Bocardo

Presidente del jurado

MC. Arnoldo Oyervides García

Coordinador de la División de Agronomía

Buenvista, Saltillo Coahuila, México. Diciembre 2004

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Aclimatización de *Mammillaria plumosa* propagada *in vitro*

Realizado por:

EVELYN ELENA CASTAÑEDA SALCIDO

Que somete a consideración del H. Jurado examinador como requisito parcial para obtener el título de:

Ingeniero en Agrobiología

Aprobada por:

M.C. Leticia Escobedo Bocardo

Asesor principal

M.C. Ricardo Requejo López

Sinodal

LIC. Esperanza de la Peña Gaona

Sinodal

M.C. Arnoldo Oyervides García

Coordinador de la División de Agronomía

Buenavista, Saltillo Coahuila, México. Noviembre 2004.

AGRADECIMIENTOS

A la M.C. Leticia Escobedo Bocardo por guiarme durante la realización de este trabajo de tesis, por sus sugerencias y aportaciones.

A el M.C. Ricardo Requejo López por orientarme con sus valiosos conocimientos.

A la Lic. Esperanza de la Peña Gaona por su apoyo, cariño, comprensión y confianza en todo momento.

A Obdulia Espitia Hernández por su apoyo moral e incondicional.

A María Elena Salcido Sánchez por su apoyo, confianza y credibilidad en los momentos más difíciles.

A Armando y Francisco Castañeda por formar parte importante de mi vida.

A la Familia Salcido Sánchez por el apoyo incondicional.

A el Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología por el impulso y apoyo financiero para desarrollar este trabajo.

INDICE DE CONTENIDO

	Pag.
INDICE DE CUADROS	vii
INDICE DE FIGURAS	xi
INTRODUCCIÓN	1
Objetivos	4
Hipótesis	5
REVISIÓN DE LITERATURA	6
Clasificación taxonómica de <i>Mammillaria plumosa</i>	6
Descripción taxonómica de la especie	7
Distribución	9
Comparación morfología	9
Prácticas culturales	10
Sustrato	10
Riego	10
Temperatura	10
Propagación	11
Vegetación donde se ubica	11
Situación ecológica	12
Propagación de plántulas <i>in vitro</i>	13
Aplicaciones	14
Ventajas	14
Desventajas	14
Medio de cultivo	15
Etapas de micropropagación	21
Enraizamiento y aclimatización	23
Sustrato	28

Tipos de sustratos	28
Arena	28
Perlita	28
Turba (peat moss)	29
Fertirriego	31
Ventajas del fertirriego	31
Fertilizante para fertirriego	31
Soluciones nutritivas	32
Preparación y control de la solución nutritiva	35
MATERIALES Y METODOS	37
Enraizamiento <i>in vitro</i> de <i>Mammillaria plumosa</i>	37
Composición del medio nutritivo de Murashige y	
Skoog	37
Preparación de soluciones madre	39
Preparación y esterilización del medio nutritivo	39
Trasvase de explante	40
Aclimatización de <i>Mammillaria plumosa</i>	41
Preparación de soluciones nutritivas	43
Procedimiento	45
MS al 50%	46
Análisis estadístico	46
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
CONCLUSIONES	66
RESUMEN	67
BIBLIOGRAFIA	69

ÍNDICE DE CUADROS

	Pag.
Cuadro 1. Composición basal del medio nutritivo de Murashige y Skoog 1962.	38
Cuadro 2. Tratamientos utilizados para la aclimatización de vitroplantas de <i>Mammillaria plumosa</i> e invernadero. Verano 2004.	42
Cuadro 3. Soluciones nutritivas utilizadas para la aclimatización de vitroplantas de <i>Mammillaria plumosa</i> en invernadero. Verano 2004.	43
Cuadro 4. Combinación de elementos para la solución nutritiva recomendada para <i>Anthurium</i> . Verano 2004.	43
Cuadro 5. Cantidades necesarias para la preparación de macronutrientes la solución nutritiva recomendada para <i>Anthurium</i> . Verano 2004.	44
Cuadro 6. Cantidades necesarias para la preparación de micronutrientes de la solución nutritiva recomendada para <i>Anthurium</i> . Verano 2004.	44
Cuadro 7. Combinación de elementos para la solución nutritiva recomendada para <i>Dianthus</i> . Verano 2004.	44
Cuadro 8. Cantidades necesarias para la preparación de macronutrientes de solución nutritiva recomendada para <i>Dianthus</i> . Verano 2004.	45

Cuadro 9.	Cantidades necesarias para la preparación de micronutrientes de solución nutritiva recomendada para <i>Dianthus</i>. Verano 2004.	45
Cuadro10.	Análisis de varianza para altura de planta a los 40 días de aclimatización de <i>Mammillaria plumosa</i> en invernadero. Verano 2004.	49
Cuadro 11.	Análisis de varianza para altura de planta a los 60 días de aclimatización de <i>Mammillaria plumosa</i> en invernadero. Verano 2004.	50
Cuadro 12.	Prueba de medias (DMS 0.05) para altura de planta de <i>M. plumosa</i> con diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización. Verano 2004.	51
Cuadro 13.	Prueba de medias (DMS 0.05) para altura de planta de <i>M. plumosa</i> en la interacción soluciones nutritivas y plantas con y sin raíz a los 40 días y 60 días de aclimatización. Verano 2004.	52
Cuadro 14.	Prueba de medias (DMS 0.05) para altura de plantas de <i>M. plumosa</i> en la interacción soluciones nutritivas y diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización. Verano 2004.	52
Cuadro 15.	Prueba de medias (DMS 0.05) para altura de plantas de <i>M. plumosa</i> en la interacción entre plantas con y sin raíz y plantas con diámetros iniciales de 0.5 y 1 cm a los 40 y 60	53

- días de aclimatización. Verano 2004.
- Cuadro 16.** Prueba de medias (DMS 0.05) para altura de plantas de *M. plumosa* en la interacción soluciones nutritivas, plantas con y sin raíz y diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización. Verano 2004. 54
- Cuadro 17.** Análisis de varianza para diámetro de planta a los 40 días de aclimatización de *Mammillaria plumosa* en invernadero. Verano 2004. 55
- Cuadro 18.** Análisis de varianza para diámetro de planta a los 60 días de aclimatización de *Mammillaria plumosa* en invernadero. Verano 2004. 56
- Cuadro 19.** Prueba de medias (DMS 0.05) para diámetro de planta de *M. plumosa* de solución nutritiva a los 40 y 60 días de aclimatización. Verano 2004. 57
- Cuadro 20.** Prueba de medias (DMS 0.05) para diámetro de plantas de *M. plumosa* con diámetros iniciales de 0.5 y 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización. Verano 2004. 57
- Cuadro 21.** Prueba de medias (DMS 0.05) para diámetro de planta de *M. plumosa* en la interacción entre soluciones nutritivas y plantas con y sin raíz a los 40 y 60 días de alcimatización. Verano 2004. 58
- Cuadro 22.** Prueba de medias (DMS 0.05) para diámetro de planta de *M. plumosa* en la interacción entre soluciones nutritivas y

diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización. Verano 2004. 59

Cuadro 23. Pruebas de medias (DMS 0.05) para diámetro de planta de *M. plumosa* en la interacción plantas con y sin raíz y diámetros iniciales de planta de 0.5 y 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización. Verano 2004. 59

Cuadro 24. Pruebas de medias (DMS 0.05) para diámetro de planta de *M. plumosa* en la interacción soluciones nutritivas, plantas con y sin raíz y diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización. Verano 2004. 60

Cuadro 25. Porcentaje de sobrevivencia de aclimatización de plantas de *Mammillaria plumosa* con y sin raíz a los 40 y 60 días. Verano 2004.

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. <i>Mammillaria plumosa</i> .	6
Figura 2. Porcentaje de sobrevivencia de plantas de <i>Mammillaria plumosa</i> con raíz para diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización en las soluciones nutritivas para <i>Anthurium</i> , <i>Dianthus</i> y MS al 50%.	63
Figura 3. Porcentaje de sobrevivencia de plantas de <i>Mammillaria plumosa</i> sin raíz para diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización en las soluciones nutritivas para <i>Anthurium</i> , <i>Dianthus</i> y MS al 50%.	64

INTRODUCCIÓN

La familia de las cactáceas conforman un grupo muy numeroso e importante por su variedad y riqueza a nivel mundial, tienen un gran valor medicinal, alimenticio, religioso, ornamental y comercial (Sánchez-Mejorada, 1982; Franco, 1997).

Las cactáceas son originarias del Continente Americano, cuentan con 110 géneros y 1500 especies aproximadamente. En de México existen cerca de 66 géneros y 850 especies (45% del total mundial) de las cuales el 80% son endémicas, con 18 géneros y 715 especies. Esto se debe a las peculiares condiciones de latitud, topografía y climas que se presentan en nuestro país (Sociedad Mexicana de Cactología, 1999; Becerra, 2000).

Coahuila es una área cactológica de gran importancia que cuenta con una lista de 269 taxas entre especies y variedades; comprendidas en 20 géneros, 188 especies y 61 variedades (López et. al.,1990); de las cuales hay un porcentaje significativo de especies que han sido ampliamente explotadas, lo que ha llevado a muchas de ellas a encontrarse al borde de la extinción (www.sagan-gea.org/hojared_biodiversidad/paginas/hoja2_cactaceas.html).

Entre los géneros representativos de México podemos encontrar el género *Mammillaria* con cerca de 200 especies distribuidas desde el sur de Estados Unidos de Norteamérica hasta el norte de Sudamérica (Flores y de Luna, 2004), teniendo su centro de diversidad y un alto endemismo dentro de nuestro país,

cabe mencionar que *Mammillaria plumosa* es una especie que se distribuye en el norte del país y que además se encuentra amenazada como consecuencia del desarrollo socioeconómico de las regiones donde habita y de la sobrecolecta a la que está sujeta por su alto valor ornamental (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1991; Hernández, 2000).

Una alternativa que nos permite mantener el recurso de manera rápida y eficiente es la propagación *in vitro* de cactáceas, donde se obtiene una producción masiva de la especie con un acelerado crecimiento y desarrollo bajo condiciones físicas y químicas controladas. Esto se logra mediante la micropropagación por cultivo de tejidos vegetales que es una técnica de la biotecnología muy utilizada (Soltero,1999).

En los protocolos utilizados durante el cultivo *in vitro*, se pueden distinguir cinco etapas que son: elección de la planta y /o tejido donante de explantes, establecimiento del cultivo aséptico, micropropagación masiva, enraizamiento *in vitro* y aclimatización. En esta investigación se consideran las dos últimas etapas que son el enraizamiento y la aclimatización de vitroplantas a condiciones de invernadero que es un aspecto que poco se ha reportado y que es muy importante para lograr plantas de mayor calidad y disminuir los costos (Soltero, 1999). La función del enraizamiento es preparar la vitroplanta para su plantación y establecimiento fuera del medio artificial, favoreciendo la iniciación de las raíces y el alargamiento del tallo. La etapa de aclimatización abarca la transferencia de la vitroplanta del medio aséptico de cultivo al ambiente de vida natural en invernadero. Las vitroplantas se

deben volver autótrofas, tienen que desarrollar raíces, brotes funcionales y aumentar su resistencia a la desecación y al ataque de organismos patógenos. (Hartmann y Kester, 1998). Con esto es posible evaluar la sobrevivencia de *Mammillaria plumosa*, que ayudará a observar y conocer el comportamiento que las vitroplantas presentan al aclimatizarlas gradualmente a su medio natural de manera eficiente, obteniendo altos porcentajes de sobrevivencia que en un futuro puedan contribuir a la reducción o prevención de la amenaza de extinción de esta y por consiguiente de otras especies.

OBJETIVOS

Objetivo General:

Lograr el enraizamiento *in vitro* y la aclimatización de *Mammillaria plumosa* en invernadero.

Objetivos Específicos:

1.- Enraizamiento *in vitro* de *Mammillaria plumosa*.

- Obtener plántulas con raíz bien desarrollada a corto plazo dentro del laboratorio.
- Desarrollar plántulas con diámetros de 0.5 y 1 cm.

2.- Aclimatización de *Mammillaria plumosa*.

- Adaptar plántulas provenientes del laboratorio a condiciones de invernadero, con y sin raíz.
- Determinar la solución nutritiva que permita obtener alto porcentaje de sobrevivencia de las plántulas.

HIPÓTESIS

Mediante el seguimiento de las últimas dos fases de la propagación *in vitro*, se encontrarán la solución nutritiva y las características físicas de las vitroplantas que permitan que *Mammillaria plumosa* se adapte a condiciones de invernadero con

altos niveles de sobrevivencia. Las vitroplantas con raíz presentarán mayores porcentajes de sobrevivencia.

Se observará una respuesta diferencial a las soluciones nutritivas sobre el crecimiento de las vitroplantas durante el proceso de aclimatización.

REVISIÓN DE LITERATURA

Clasificación Taxonómica de *Mammillaria plumosa*



Figura 1. *Mammillaria plumosa*

REINO: Vegetal

DIVISIÓN: Embryophyta

CLASE: Dicotiledónea

ORDEN Caryophyllales

FAMILIA: Cactaceae

SUBFAMILIA: Cactoideae

TRIBU: Cactaeae

GENERO: *Mammillaria*

ESPECIE: *plumosa*

Nombre Común: biznaguita de plumas. (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1991).

La especie toma su nombre por sus espinas, es también conocida como feather ball en inglés, que significa bola de plumas por ser un cactus pequeño y

tuberculado con espinas blancas que semejan plumas
(Faucon, 1998; Glass, 1998).

Descripción Botánica de la Especie

El género *Mammillaria* es uno de los grupos que presenta mayor complejidad taxonómica por su diversidad morfológica, los especialistas calculan entre 150 y 360 especies (Hunt & Taylor, 1990; Bravo y Sánchez –Mejorada, 1991).

Tallo: cespitoso desde la base, de 6 a 7 cm de altura y diámetro. Forma grupos medianamente grandes con varias cabezas, los tallos individuales son desde depresos hasta globosos, a veces ligeramente aplanados en su medio natural y de globosos a depreso-globosos en cultivo (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1991; Glass, 1998).

Tubérculo: están dispuestos irregularmente en 8 y 13 series espiralados, cilíndricos, de 12 mm de longitud, 2 a 3 mm de ancho en la base, de consistencia suave, de color verde claro, con jugo acuoso, a menudo, los tubérculos separados o que están a punto de caer de la planta original también echan raíces(Bravo y Sánchez-Mejorada, 1991; Glass, 1998).

Axilas : con lana larga, blanca.

Areolas: circulares, con lana blanca muy corta.

Espinas: radiales alrededor de 40, de 3 a 7 mm de longitud, plumosas, suaves, tortuosas, sedosas, blancas, con un tallo, ascendentes y muy recurvadas (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1991; Glass, 1998).

- Espinas centrales: ninguna.

Flores: campanuladas de 15 mm de longitud y 14 mm de diámetro, segmentos exteriores del perianto verde amarillento pálido, el margen casi blanco, de lanceolado hasta claviforme, obtusos, con el margen entero, de color blanco verdoso muy pálido (de vez en cuando con una raya de color café rojizo verdoso a rosada), despiden un aroma fresco y semejante al limón; filamentos y estilos de color verde pálido; anteras amarillo azufre y lóbulos de estigma 3 a 5, amarillos verdosos, a menudo el color de las flores tiende al crema amarillento, a veces al rosa (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1991; Glass, 1998).

Fruto: de 10 a 20 mm de longitud, 5 a 7 mm de diámetro, de color rosa castaño, la corteza delgada, blanquecina hacia abajo (Glass, 1998).

Semillas: de 1 mm de longitud, 0.4 mm de espesor; testa foveolada, de café oscuro a negra (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1991; Glass, 1998).

Distribución

Origen: México

Se distribuye en los estados de Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas.

- En Coahuila crece entre Saltillo y Monterrey, específicamente en Ojo Caliente, Higueras y Mariposa.

- En Nuevo León ha sido colectada en el Cañón de los Muertos y en Barretillas.
- En Tamaulipas al Este de Ciudad Victoria. Se ubica en taludes calizos (Bravo y Sánchez Mejorada, 1991).

Comparación Morfológica

No hay ninguna especie con la que pueda confundirse esta hermosa cactácea, pues sus espinas suaves son únicas. No presenta una sola espina pungente. Una forma de *Mammillaria schiedeana* ha sido llamada plumosa. Sin embargo, esto se considera un error. Por lo común *Mammillaria schiedeana* presenta espinas amarillas oro, las cuales se ponen blancas con el tiempo. Si bien pueden presentar en ocasiones espinas muy blandas, nunca tan parecidas a la calidad plumosa y liviana de *Mammillaria plumosa* (Glass, 1998).

Prácticas Culturales

Sustrato

Las plantas de cierto hábitat pueden tener requerimientos especiales en el sustrato, en el caso de *Mammillaria plumosa* es considerada como una planta calcícola floreciendo sobre rocas calcáreas en pendientes (Innes y Glass, 1991).

Es una de las mamilarias que se desarrollan bien con suelo mixto de grava y carbón de leña (Faucon, 1998).

Riego

Debe recibir riegos regulares, previniendo que el suelo no se seque. Siempre hay que proporcionar un buen drenaje puesto que es una especie propensa a la putrefacción (Glass, 1998; Faucon, 1998).

Temperatura

- Máxima: 3°C

- Mínima: 35°C

Exposición al sol: Durante el verano sombras ligeras, en zonas extremadamente calurosas, exposición total en otras áreas menos calurosas (Faucon, 1998).

Propagación

Es muy fácil de cultivar. Se ha diseminado mucho plantando pies o por brotes que se desprenden de una planta adulta, pero vale la pena observar que también se propaga fácilmente a partir de semillas (Glass, 1998).

Vegetación donde se Ubica

Hábitos de crecimiento : Viven agrupados

Los tipos de vegetación en las áreas donde se ubica *Mammillaria plumosa* en su mayor parte corresponde a :

- **Matorral desértico rosetófilo** representado por *Agave lechuquilla*, asociado comunmente con *Yuca carnerosana*, *Hechita sacariosa*, *Dasyilirion palmeri*, *Parthenium argentatum*, *P. inacanum* y *Euphorbia antisiphilitica*.

- **Matorral desértico micrófilo** *Larrea tridentata*, como elemento casi constante y dominante en áreas de suelos profundos, frecuentemente se le encuentra asociado con especies protegidas por espinas como; *Mimosa biuncífera*, *Prosopis glandulosa* o inermes como *Flouencia cernua* (Wehbe y Elizondo, 1986).

Situación Ecológica

Mammillaria plumosa es una especie de cactácea ubicada en la categoría (**A**) de amenazada según la Norma Oficial Mexicana **NOM-059-ECOL-2001**, que tiene por objeto identificar las especies o poblaciones de flora y fauna silvestres en riesgo en la República Mexicana mediante la integración de las listas correspondientes, así como establecer los criterios de inclusión, exclusión o cambio de categoría de riesgo para las especies o poblaciones, mediante un método de evaluación de su riesgo de extinción (Mayen, 2002).

También se encuentra inscrita en el Apéndice II de la CITES (Convenio sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna Silvestres), organización que regula el comercio de especies amenazadas, en el ámbito internacional, mediante un sistema de permisos (Glass, 1998).

Antecedentes: cuando esta especie fue ubicada en el Apéndice I de CITES, los cultivadores comerciales, quienes habían criado grandes cantidades de esta planta popular, simplemente dejaron de difundirla a fin de evitar los problemas que acarrearía traficar con plantas enlistadas en dicho apéndice, esto no ayudaba a la conservación de la especie, así que esa fue una de las razones que obligaron a reubicarla en el Apéndice II y se reanudó su propagación (Glass, 1998).

Propagación de plántulas *in Vitro*

La propagación de plantas *in vitro* o micropropagación, constituye uno de los métodos que mayores logros ha aportado al desarrollo de una nueva agricultura (Auge et. al., 1986), esta es aplicada en la producción masiva de especies hortícolas, aromáticas, medicinales, frutícolas, ornamentales y forestales (www.google.com.mx/search...plantulas+in+ vitro&hl=es).

Esta técnica, se ubica dentro del cultivo de tejidos vegetales y consiste en desarrollar plantas nuevas en un medio artificial bajo condiciones asépticas, a partir de partes muy pequeñas de plantas tales como embriones, semillas, tallos, meristemas apicales o radicales. Es de gran importancia proporcionar a los explantes, las condiciones físicas y químicas apropiadas para que las células expresen su potencial intrínseco o inducido. Los brotes y las plántulas pueden dar

lugar a una planta completa con las características propias de la planta madre Hartman y Kester (1988).

Los procedimientos de cultivo de tejidos utilizan un sistema de producción *in vitro* que requiere instalaciones de laboratorio y técnicas asépticas similares a las empleadas para cultivar hongos, bacterias y otros microorganismos, por lo que es necesario adoptar procedimientos de asepsia para mantener los cultivos libres de contaminación microbiana (Hurtado y Merino 2000).

Aplicaciones de la micropropagación:

- Propagación masiva de plantas, especialmente beneficioso para especies de difícil propagación por otros métodos, o en vías de extinción
- Clonación de individuos elite durante todo el año
- Selección sanitaria.
- Producción de plantas jóvenes.

(Auge et al, 1986; www.google.com.mx/search...plantulas+in+vitro&hl=es).

Ventajas de la micropropagación:

- Otorga la posibilidad de incrementar rápidamente nuevos materiales.

- Permite controlar las condiciones ambientales, debido a su independencia de los mismos (luz, temperatura y humedad controlada).
- Se pueden obtener gran cantidad de individuos en espacios reducidos.
- Permite crear un mercado de plántulas *in vitro* para cultivo de calidad y de rendimientos máximos([www.google.com.mx/search...plantulas+in+vitro &hl=es](http://www.google.com.mx/search...plantulas+in+vitro&hl=es)).

Desventajas

- Las instalaciones necesarias son costosas y en muchas especies de plantas las consideraciones económicas es posible que no justifiquen su empleo comercial.
- Se necesita adiestramiento específico.
- Los errores de identidad, introducción de organismos patógenos desconocidos o la aparición de un mutante desapercibido pueden multiplicarse a una escala considerable en un tiempo muy corto.
- Con ciertos sistemas de cultivo, se pueden originar clases específicas de modificaciones genéticas que pueden alterar las plantas producidas (Hartman y Kester, 1988).

Medio de Cultivo

Dentro de la micropropagación de plantas es necesario conocer los medios de cultivo en donde se van a desarrollar sus partes vegetativas, básicamente un medio de cultivo se refiere al medio artificial en el cual se producirán plántulas completas listas para ser transferidas a condiciones *in vivo*.

El objetivo del medio de cultivo es proporcionar al tejido vegetal o plántula según sea el caso, las condiciones artificiales necesarias para que se desarrolle sin ningún problema, por lo tanto, en un medio de cultivo los componentes o ingredientes presentes ahí varían, así como también pueden variar sus proporciones dentro del medio, según el tipo de planta y la etapa de propagación en que se encuentre.

Generalmente son usadas ciertas mezclas estándar las cuales se preparan como productos químicos puros o adquirirse como medios de cultivo premezclados.

El medio de cultivo tiene dos funciones principales. La primera, es proporcionar los nutrientes básicos para el crecimiento continuado de los explantes aislados y los propágulos subsiguientes. La segunda función es dirigir el crecimiento y desarrollo mediante control hormonal. Las clases primarias de hormonas son auxinas y citokinina, pero en situaciones específicas se utilizan las giberelinas y el ácido abscísico. El control hormonal se realiza por:

- a. la clase de hormona o regulador de crecimiento.
- b. La concentración
- c. La secuencia en que se proporcionen.

Las diferentes plantas pueden responder en un modo distinto a las diversas citokinas y auxinas, en parte debido a su control hormonal natural (Hartman y Kester, 1988).

Los ingredientes comúnmente usados en la micropropagación pueden agruparse de la siguiente forma (Hudson, 1987):

- a) Sales inorgánicas
- b) Compuestos orgánicos
- c) Ingredientes naturales complejos
- d) Sostenes inertes.

a) Sales inorgánicas

Las sales inorgánicas proporcionan los macroelementos (nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio) y microelementos (boro, cobalto, cobre manganeso, yodo, hierro y zinc), de estas sales se pueden preparar soluciones concentradas (en grupos, macronutrientes y micronutrientes) y guardarse en el refrigerador. Existen diversos medios de cultivo, que contienen estos dos grupos de sales (MS, B5, N6, Wh), pero el medio MS (Murashige-Skoog, 1962) es utilizado en un buen número de especies vegetales.

Hurtado (2000), menciona que a lo largo de las intensas investigaciones se ha logrado encontrar formulaciones diferentes, estas consisten en mezclas de sales las cuales proporcionarían los nutrientes esenciales para un desarrollo óptimo de los tejidos vegetales en cultivos *in vitro*, la formulación más comúnmente utilizada es la de Murashige y Skoog (1962).

b) Compuestos orgánicos

Carbohidratos

Pierik en 1990, explica que el azúcar es considerado un componente esencial en cualquier medio de cultivo, puesto que es utilizado en el crecimiento y desarrollo *in vitro*, ya que el crecimiento se realiza en condiciones poco apropiadas para la fotosíntesis y en este caso los tejidos verdes en condiciones *in vitro*, no son completamente autotróficos y se ven afectados por la poca cantidad de CO₂.

En la mayoría de los cultivos se utiliza sacarosa del 2 al 4%, la glucosa y ocasionalmente la fructuosa y el almidón, los cuales se añaden cuando se hace el medio de cultivo.

Vitaminas

Las vitaminas utilizadas en los medios de cultivo son: Tiamina (B1) de 0.1 a 0.5 mg l⁻¹ así como el ácido nicotínico (B3) de 0.5 mg l⁻¹ y la Piridoxina (B6) de 0.5

mg l^{-1} , las cuales son requeridas para el desarrollo adecuado de los tejidos vegetales en las diferentes etapas de micropropagación (Smith, 1992).

Hudson en 1987, menciona que en forma rutinaria también se agrega el inositol (100 mg l^{-1}). Otras vitaminas no menos importantes son: el ácido pantoténico (0.1 mg l^{-1}) y la biotina (0.1 mg l^{-1}). Estos materiales solubles en agua, pueden prepararse como soluciones concentradas, las cuales se tendrán en refrigeración.

Fitorreguladores

Weaver (1996), menciona que los fitorreguladores son todos los compuestos orgánicos (no considerados nutrientes) que en pequeñas cantidades son capaces de fomentar, inhibir o modificar cualquier proceso fisiológico de la planta. El término fitorregulador puede incluir un rango amplio de compuestos, puede aplicarse en los dos casos tanto para los compuestos naturales producidos dentro de la planta, como para los compuestos sintetizados artificialmente, el término hormona vegetal o fitohormona únicamente se limita al primer caso.

Los efectos de los fitorreguladores no son absolutamente específicos, su respuesta hacia los cultivos *in vitro* depende del tipo de explante y del genotipo de la planta. El desarrollo y la morfogénesis *in vitro* son regulados por la interacción entre el balance de fitorreguladores adicionados al medio y las fitohormonas producidas internamente (George, 1996)

Los reguladores de plantas mas utilizadas en los medios de cultivo son las auxinas y citocininas. Las auxinas sintéticas mas usadas son: el ácido naftalenacético (NAA) utilizadas en concentraciones de 0.1 a 5 mg^l⁻¹, el ácido indolbutírico (IBA) de 0.1 a 5 mg^l⁻¹, los ácidos 4-clorofenoxiacético (CPA) y 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-D) de 0.05 a 0.5 mg^l⁻¹ y el ácido indolacético (IAA) de 1 a 50 mg^l⁻¹. Las auxinas participan ampliamente en un sinnúmero de procesos, sin embargo los principales son el alargamiento y la división de las células, la formación de brotes, raíces y tejidos callosos (Hurtado, 2000)

Las citocininas son utilizadas frecuentemente en la estimulación del crecimiento y desarrollo, generalmente provocan la división celular y mejoran su actividad si van en compañía de las auxinas; generalmente concentraciones altas inhiben el desarrollo de raíces (Pierik, 1990). Las citocininas comúnmente usadas en los medios de cultivo *in vitro* son: kinetina, benziladenina y zeatina, las primeras dos son compuestos sintéticos y la última se encuentra en forma natural en la planta (Dodds y Roberts; 1990).

Las giberilinas se han usado para inducir el alargamiento de los tallos. Del grupo de las giberelinas la GA₃ es la mas común, sin embargo, las giberelinas no se manejan con regularidad en los cultivos *in vitro* ya que se consideran sustancias no esenciales para los tejidos, además que se pierde el 90% de su actividad biológica después del autoclaveado (Pierik, 1990).

c) Ingredientes naturales complejos

Hurtado en 2000, menciona que los complejos naturales se han empleado para enriquecer los medios de cultivo y son utilizados generalmente como una última alternativa cuando los otros ingredientes han fallado en el establecimiento del cultivo. Dentro de estos se pueden utilizar los hidrolizados de proteína obtenidos de la caseína o de otras proteínas, agua de coco, malta, extracto de levadura, jugos de tomate y de naranja; estas sustancias se disuelven en agua y se añaden durante la preparación del medio de cultivo.

d) Sostenes inertes

Agar

Hudson en 1987, indica que el agar es un producto de presentación en forma de polvo, el cual es obtenido de ciertas especies de algas rojas. Se utiliza principalmente por dos características que lo identifican y son aprovechadas en los medios de cultivo.

- 1). Se derrite al calentarlo, pero a temperatura ambiente se enfría formando un gel semisólido (por lo que es usado en los medios de cultivo).
- 2) Biológicamente es considerado inerte, sin embargo en su estado natural puede contener impurezas, por lo que se debe usar solo en producto purificado.

Medios líquidos

Los medios líquidos en los cuales no se utiliza agar se tienen algunas ventajas para las plántulas, al mejorar la absorción de nutrientes y evitar las impurezas del

compuesto, sin embargo se necesita cierto tipo de sostén, los cuales existen comercialmente hechos a base de poliéster 100%. Los medios líquidos se prefieren para los explantes de ciertas especies de plantas que exudan sustancias tóxicas de la superficie cortada (Escalona, 1999).

Etapas de la micropropagación

Se pueden distinguir cinco etapas durante el cultivo *in vitro*:

- 1) Elección del material donante de explantes: consiste en seleccionar la planta o parte de ella de donde se pretende iniciar la micropropagación, puede ser un tejido, brote, raíz, semilla, etc.

- 2) Establecimiento del cultivo aséptico: consiste en la desinfección de los explantes y su posterior adaptación al medio artificial de modo de inducir callo, brote, raíz o embrión somático según se desee.

- 3) Micropropagación masiva: busca generar una masa vegetal suficiente para la regeneración del número de plantas necesarias.

- 4) Enraizamiento *in vitro*: durante esta etapa se busca la formación de raíces con el fin de convertir los brotes o embriones somáticos en plántulas completas.

5) Rusticación o Aclimatización: es la adaptación de las plántulas obtenidas *in vitro* a las condiciones medioambientales *ex vitro*.(www.google.com.mx/search...plantulas+in+vitro&hl=es).

Enraizamiento y Aclimatización

La cuarta etapa de la micropropagación o de enraizamiento *in vitro* aprovecha los brotes diferenciados de la etapa anterior, colocándolos en un medio de cultivo compuesto por sales inorgánicas, vitaminas y reguladores de crecimiento de modo que dichos brotes emitan raíces, en esta etapa se debe lograr también el desarrollo de estomas funcionales y del aparato fotosintético, además de lograr su pre-acondicionamiento para incrementar su resistencia a la deshidratación (Hudson, 1987).

Todas estas deficiencias o disfunciones provocadas por o durante la incubación *in vitro* es necesario corregirlas de forma gradual, e incluso comenzar la adaptación en condiciones *in vitro*, induciendo fotoautotrofia *in vitro* mediante incrementos de la tasa de CO₂ y de irradiancia en los contenedores de cultivo, con el objeto de mejorar la calidad de la planta, los niveles de producción y los costos del proceso de micropropagación (López, 1999).

En el enraizamiento *in vitro*, en general se ha observado que la iniciación de raíz y la posibilidad de enraizamiento pueden aumentar de manera significativa al disminuir los niveles de sales minerales en el medio nutritivo, esto se debe a que los requerimientos de nitrógeno de la plántula disminuyen. A su vez se debe incrementar la concentración de sacarosa del 2 al 5 %, pues su presencia es esencial para el enraizamiento *in vitro* de muchas especies y su posterior aclimatización en invernadero (Pierik et al., 1975).

Las condiciones ambientales del cultivo tienen mucho que ver en el enraizamiento *in vitro* de los brotes; (Pierik, 1990), observaron que en las plantas enraizadas *in vitro*, la zona de transición entre la raíz y el tallo era anormal, con unas conexiones vasculares débiles y malformadas, lo que producía problemas en la absorción y circulación de agua desde las raíces al tallo. Esta disfunción se corrige, al menos parcialmente, tras una adecuada aclimatización. En otras ocasiones el problema estriba en que las raíces que crecen en agar son defectuosas por la falta de aireación, carecen de pelos radicales y se necrosen al transplantar las plántulas, lo que provoca una parada en el crecimiento de la planta (Pierik, 1990).

Las raíces formadas *in vitro* son gruesas y con pelos radicales engrosados y anormales, con sistemas vasculares anómalos, en comparación con raíces formadas en un sustrato arenoso. En las raíces que no mueren durante el proceso de transplante se producen nuevas raíces laterales y adventicias normales durante el proceso de aclimatación y estas ya crecen activamente. Por ello la razón raíz : tallo siempre es más alta en plantas enraizadas *ex vitro* que *in vitro*. Un desarrollo pobre del sistema radical hace que el crecimiento *in vivo* se haga muy difícil, especialmente cuando hay una elevada transpiración. Es de vital importancia que las plantas *in vitro* pierdan la menor cantidad de agua posible, cuando pasan a las condiciones *in vivo*, esto se logra usando humedad relativa alta del 100-95 % durante el período de aclimatización, la cual se va reduciendo gradualmente hasta alcanzar el nivel normal (50 –60%) en invernadero o campo.(Pierik, 1990).

Todos estos factores hacen que muchos de los laboratorios que trabajan produciendo plantas *in vitro*, no realicen el enraizamiento *in vitro*, al resultar problemático, difícil y caro, ya que el proceso de enraizamiento *in vitro* se estima que implica un costo de entre el 35-75% del coste total de la micropropagación (Pierik, 1990).

El enraizamiento puede ser *in vivo* o *in vitro*, la ventaja del primero radica en que a la vez que se está llevando a cabo el enraizamiento, los brotes se adaptan a las condiciones ambientales en las cuales crecen y se desarrollan las plantas; sin embargo con este método existe una probabilidad muy alta de que el número de

plantas sobrevivientes sea bajo, ya que estas aún no desarrollan raíces para realizar sus funciones de absorción y transporte nutrimental (Pierik, 1990)

Algunos autores (Pierik, 1990) han propuesto una técnica híbrida, que combina las ventajas del enraizamiento *in vitro* y *ex vitro*. Para ello los brotes son incubados inicialmente en un medio estéril que incluye hormonas para la inducción de raíces y azúcares, durante un período de 3 a 7 días para la inducción-inicio de las raíces. Esto se puede hacer en un medio sólido o líquido normalmente en oscuridad. Luego el material es repicado en un medio no estéril, o incluso transplantado a tierra, para la fase de elongación y desarrollo de las raíces, mejorándose de esta forma en muchos casos el resultado final de aclimatación y supervivencia.

Pierik (1990), propone realizar el enraizamiento y la aclimatación simultáneamente, transplantando los brotes directamente en el campo, después de una etapa previa de endurecimiento *in vitro* tras la inducción del enraizamiento, las plantas aún en condiciones *in vitro* son sometidas a una elevada intensidad luminosa, un fotoperíodo más corto y una temperatura inferior a la normal, durante un par de semanas, esto favorece la lignificación y el desarrollo cuticular y estomático del material y permite su transplante directo al campo en condiciones controladas de humedad, luz y nutrientes (minitúnel).

Según Pierik (1990), la elección del método de enraizamiento va a depender totalmente de la especie y de sus características: porcentajes de enraizamiento y supervivencia final, que varían enormemente de unas especies a otras.

Se debe tener en cuenta lo siguiente:

- Para evitar infecciones por hongos y bacterias: el agar debe ser bien eliminado y utilizar suelo esterilizado.
- Evitar el daño de las raíces, plantar sobre suelo finamente tamizado.
- Para mejorar el establecimiento *in vivo* de plantas producidas *in vitro*, el enraizamiento debe tener lugar en un medio pobre de sales (Murashige y Skoog, 1962, diluido a la mitad)
- La aclimatización *in vitro*, especialmente cuando se produce al exponer las plantas a una humedad relativa baja, incrementa la tasa de supervivencia cuando las plantas se transfieren al suelo. Si se transfieren a invernadero plantas *in vitro*, se debe bajar gradualmente la humedad relativa y la irradiancia.

La aclimatización se ha definido como el proceso en el cual un organismo se adapta o se acondiciona gradualmente a los cambios ambientales y es necesaria para plántulas obtenidas *in vitro* o como la etapa intermedia entre laboratorio y campo, denominada fase de aclimatización o "endurecimiento" (Soria et. al., 1998).

Una planta que se ha originado *in vitro*, difiere en muchos aspectos de las que se originan *in vivo*. (Pierik, 1990). El estrés de adaptación a las condiciones de vivero es muy fuerte. Un porcentaje de las plántulas clonadas *in vitro* no sobrevive al invernadero, pero la parte que si sobrevive crece, ya en condiciones normales y al cabo de una semanas está lista para ser trasladada al campo de cultivo (Fonturbel, 2002).

Las características anatómicas y fisiológicas de las plantas micropropagadas hacen necesaria para su supervivencia en condiciones *ex vitro*, una gradual adaptación o aclimatación a las condiciones medioambientales controladas del invernadero o del campo (López, 1999).

En la fase de aclimatación se pretende que las plantas se adapten a condiciones *ex vitro* donde no hay asepsia, ni la luz, temperatura y humedad están controladas y donde el crecimiento de ser autotrófico y no heterotrófico como *in vitro*. Por lo tanto se pretende reconstruir y desarrollar los sistemas de adaptación a la condiciones *in vitro*, es el caso de la lignificación, cubiertas cuticulares, estomas y estructuras fotosintéticas (López, 1999).

Sustratos

El término sustrato se aplica a todo material sólido distinto del suelo *in situ*, natural, de síntesis o residual, mineral u orgánico, que colocado en un contenedor, en forma pura o en mezcla, permite el anclaje del sistema radical, desempeñado por tanto un papel de soporte para la planta. El sustrato puede intervenir o no en el

complejo proceso de la nutrición mineral de la planta (www.infoagro.com).

Tipos de Sustratos.

- **Arena:** consiste en pequeños granos de roca, de 0.05 a 2.0 mm diámetro¹, formados como resultado de la interperización de diversas rocas, dependiendo su composición mineral de aquella de la roca madre. La arena de cuarzo, que esta formada en su mayor parte por un complejo de sílice, es la que en general se usa para fines de propagación. La arena es el más pesado de los materiales que se utilizan como medio de crecimiento de las raíces, pesando alrededor de 1290 kgm⁻³. De preferencia debe ser fumigada o tratada con calor antes de usarla, ya que puede contener semillas de malezas y organismos patógenos. La arena practicamente no contiene nutrientes minerales ni capacidad de amortiguamiento químico. Se usa principalmente en combinación con materiales orgánicos (Hartman y Kester, 1998).
- **Perlita:** es un mineral silicáceo de color blanco grisáceo, es de origen volcánico y se extrae de escurrimientos de lava. El mineral crudo se tritura, criba y se calienta en hornos a 760°C, a cuya temperatura la pequeña cantidad de humedad que existe en las partículas se convierte en vapor, expandiendo las partículas a formar pequeños

granos esponjosos que son muy livianos, pesando sólo de 80 a 130 kgm^{-3} . La alta temperatura de procesamiento proporciona un producto estéril. Absorbe de 3 a 4 veces su peso de agua. En esencia es neutra, con un pH de 6.0 a 8.0, pero sin capacidad de amortiguamiento químico. No tiene capacidad de intercambio catiónico y no contiene nutrientes minerales. Es muy útil para aumentar la aeración de las mezclas. En combinación con el musgo turboso, la perlita es un medio muy popular para enraizar (Hartman y Kester, 1998).

- **Turba o Peat moss:** están formadas por restos de musgos y otras plantas superiores que se hallan en proceso de carbonización lenta. Conservan largo tiempo su estructura anatómica por que están fuera del contacto con el oxígeno y por el exceso de agua. Los residuos vegetales pueden depositarse en diferentes ecosistemas lo que daría lugar a la formación de dos tipos de turba: *Sphagnum* u *oligotróficas* y *herbáceas* o *eutróficas*. Según Hartman y Kester (1998), varía en color, de pardo claro o pardo oscuro. Tiene una alta capacidad para retener humedad (15 veces su peso seco), una acidéz elevada (pH de 3.2 a 4.5) y contiene una pequeña cantidad de nitrógeno (1 %), pero poco o nada de fósforo o potasio. Las turbas *Sphagnum* son los componentes orgánicos más utilizados en la actualidad para medios de cultivos que crecen en macetas, debido a sus excelentes propiedades físico-químicas, sin embargo y a pesar de que durante casi 30 años las turbas han sido los materiales más utilizados como sustratos, en los

últimos tiempos han sido sustituidos por los inorgánicos debido a alteraciones microbiológicas e interacciones con la disolución nutritiva, rápida descomposición, aireación reducida, etc., además las reservas de turba son limitadas y no renovables, por lo que su uso indiscriminado puede originar un impacto medioambiental de importancia (Vázquez, 2004).

Fertirriego

El método de "fertirriego" combina la aplicación de agua de riego con los fertilizantes. Esta práctica incrementa notablemente la eficiencia de la aplicación de los nutrientes, obteniéndose mayores rendimientos y mejor calidad, con una mínima contaminación del medio ambiente(Imas, 1999).

Ventajas del fertirriego

El fertirriego es el único método correcto de aplicar fertilizantes a los cultivos bajo riego. Con el fertirriego, los nutrientes son aplicados en forma exacta y uniforme solamente al volumen radicular humedecido, donde están concentradas las raíces activas. El control preciso de la tasa de aplicación de los nutrientes optimiza la fertilización, reduciendo el potencial de contaminación del agua subterránea causado por el lixiviado de fertilizantes (Imas, 1999).

El fertirriego permite adecuar la cantidad y concentración de los nutrientes de acuerdo a la demanda de nutrientes durante el ciclo de crecimiento del cultivo. El abastecimiento de nutrientes a los cultivos de acuerdo a la etapa fisiológica,

considerando las características climáticas y del suelo, resulta en altos rendimientos y excelente calidad de los cultivos (Imas, 1999).

Fertilizantes para fertirriego

Un pre-requisito esencial para el uso de fertilizantes sólidos en fertirriego es su completa disolución en agua. Ejemplos de fertilizantes altamente solubles apropiados para su uso en fertirriego son: nitrato de amonio, cloruro de potasio, nitrato de potasio, urea, monofosfato de amonio, monofosfato de potasio, etc.

En sistemas intensivos como invernaderos y/o sustratos artificiales, la solución nutritiva debe incluir calcio, magnesio y micronutrientes (Fe, Zn, Mn, Cu, B, Mo). El hierro debe ser suministrado como quelato porque las sales de hierro, como por ejemplo sulfato de hierro, son muy inestables en solución y el hierro precipita fácilmente. En caso de aguas duras, se debe tomar en cuenta el contenido de Ca y Mg en el agua de riego (Imas, 1999).

Soluciones Nutritivas

En los cultivos hidropónicos todos los elementos esenciales se suministran a las plantas disolviendo las sales fertilizantes en agua para preparar la solución de nutrientes. La elección de las sales depende de un elevado número de factores. La proporción relativa de iones que debemos añadir a la composición se comparará con la necesaria en la formulación del nutriente; por ejemplo, una molécula de nitrato potásico KNO_3 proporciona un ión de potasio K^+ y otro ión de nitrato NO_3^- (Llanos, 2001).

Las diferentes sales fertilizantes que podemos usar para la solución de nutrientes tienen a la vez diferente solubilidad, es decir, la medida de la concentración de sal que permanece en solución cuando la disolvemos en agua; si una sal tiene baja solubilidad, solamente una pequeña cantidad de esta se disuelve en el agua (Llanos, 2001).

Miller (1967), indica que los elementos esenciales para la planta son 15; al principio sólo se aceptaban que eran 10 y estos son: Carbono Hidrógeno, Oxígeno, Fósforo, Potasio, Nitrógeno, Azufre, Calcio, Fierro y Magnesio; a estos se les llama elementos mayores (con excepción del Fierro), por que las plantas los utilizan en cantidades mayores que los 5 elementos menores, incluidos últimamente en la lista, y estos son: Boro, Cobre, Manganeso, Molibdeno y Zinc, También llamados micronutrientes. Sin embargo, Müller (1964), considera al Fierro como un elemento igual que los macroelementos, ya que la planta necesita una cantidad relativamente grande o un suministro constante de ello.

Debe haber por lo menos tres elementos macronutrientes presentes en el medio nutritivo en forma de cationes, ellos son: Potasio, Calcio y Magnesio . Los tres aniones macronutrientes son Nitratos, Fosfatos y Sulfatos. Todos los macronutrientes deben por lo tanto ser suministrados por tres sales, por

ejemplo, Nitrato de potasio, Fosfato de calcio y Sulfato de magnesio. En adición a los elementos mayores o macronutrientes, una concentración apropiada de elementos menores debe ser suministrada a la solución a bajos pero adecuados niveles y el pH debe ser mantenido en rangos deseables (Llanos, 2001).

Existen otros factores importantes con respecto a las soluciones nutritivas. La temperatura de la solución debe estar dentro del rango correcto. Si la solución es muy fría, la tasa metabólica de la raíz baja y la absorción de nutrientes también. Esto tiene un efecto de retardo en el crecimiento de la planta por debajo de lo deseado. También existen problemas cuando la temperatura es muy alta y esto afecta la absorción mineral. El mejor rango de temperatura está entre 18 y 25°C para la mayoría de cultivos (www.oni.escuelas.edu...soluciones_nutritvas.htm).

La temperatura es importante porque determina la cantidad de oxígeno que puede estar disuelto dentro de la solución. El agua en una solución nutritiva fría puede disolver más oxígeno que el agua en una solución caliente, ya que la cantidad total de oxígeno disuelto puede estar limitada y en el mejor de los casos, es importante mantenerlo en un punto alto. Las raíces como cualquier órgano vivo necesita oxígeno para trabajar apropiadamente. Es posible "ahogar" las raíces si no hay suficiente oxígeno disuelto en la solución. Otra razón por la cual la solución debe estar bien oxigenada es por los patógenos (organismos que causa enfermedades) (www.oni.escuelas.edu....soluciones_nutritvas.htm).

El pH y la conductividad eléctrica (CE) de una solución nutritiva deben ser revisados. El pH es la forma de medir el grado de acidéz de una solución nutritiva. Hidropónicamente, la planta se comporta mejor si la solución es ligeramente ácida; esto significa un pH entre 5,5 y 6,5. Fuera de este rango algunos minerales, aunque estén presentes en la solución, no estarán disponibles para ser absorbidos por las raíces. Esto por supuesto afectará a la planta. Si el pH de la solución está lejos del rango recomendado, entonces algunos de los minerales de la solución nunca estarán disponibles para la planta. La CE de una solución nutritiva es una medida de fuerza de la solución. El nivel de CE recomendado es de $1,8 \text{ mScm}^{-1}$ (www.oni.escuelas.edu....soluciones_nutritvas.htm).

El agua dura presenta problemas cuando se le utiliza para preparar soluciones nutritivas; para empezar,

los niveles de calcio y magnesio son muy elevados para la planta. Si se utiliza una concentración normal de nutrientes con agua dura, los niveles de calcio y magnesio serán tan altos que el nutriente estará desbalanceado. Otro problema adicional con el bicarbonato es que es alcalino (lo opuesto a la acidéz) y cuando se encuentra en la solución nutritiva, el pH se incrementará por encima del rango recomendado. La respuesta usual es bajar el pH agregando mas agua (no-dura), aunque con el agua dura para bajar el pH se necesitaría una cantidad excesiva de agua y podría causar problemas de toxicidad (www.oni.escuelas.edu....soluciones_nutritvas.htm)..

Las soluciones nutritivas pueden ser modificadas de acuerdo a los requerimientos específicos de cada planta, las raíces de plantas sensibles a la baja tensión de oxígeno necesitan una aireación continua en la solución. Conforme avanza el crecimiento de las plantas, el pH inicial cambia alcanzando valores

incompatibles para un normal crecimiento y desarrollo, por lo que es necesario renovarlas cada cierto tiempo (www.monografias.com...SOLUCIÓN).

Preparación y control de la solución nutritiva

Miller(1967), enumera algunos aspectos importantes:

- 1.- La solución debe contener buena provisión de elementos esenciales.
- 2.- Todas las soluciones deben tener la misma presión osmótica.
- 3.- Debe mantener un pH constante (de preferencia pH 6).
- 4.- Debe asegurarse que las raíces estén aireadas.
- 5.- Las soluciones deben cambiarse periódicamente para mantener constante la concentración.
- 6.- Si las sales tienden a cristalizar y a "trepar" por los tallos de la planta, es necesario rociar los tallos de cuando en cuando con agua.
- 7.- Si las plantas crecen en líquido en vez de medio sólido, deben sostenerse con estacas o tutores.
- 8.- Otras condiciones para el crecimiento como la luz y temperatura deben ser adecuadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

La primera parte del trabajo, enraizamiento *in vitro* de las vitroplantas, se desarrolló en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Departamento de Fitomejoramiento. La segunda parte del trabajo, la aclimatización de *Mammillaria plumosa*, se llevó a cabo en el Invernadero ambos pertenecientes a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Enraizamiento *in vitro* de *Mammillaria plumosa*.

Se partió de vitroplantas de *Mammillaria plumosa* de las que se trasvasaron en condiciones de esterilidad a frascos de gerber con medio nutritivo de Murashige y

Skoog para inducir el enraizamiento *in vitro*; la composición y preparación del medio se describe a continuación:

Composición del medio nutritivo de Murashige y Skoog.

En el Cuadro 1 se describe la composición basal del medio nutritivo de Murashige y Skoog 1962 (MS).

Cuadro 1. Composición basal del medio nutritivo de Murashige y Skoog 1962.

COMPUESTOS	mg/l	g/l ⁻¹	g/10l ⁻¹
Macronutrientes			
NH ₄ NO ₃	1650.00	1.65	16.5
KNO ₃	1900.00	1.9	19g
CaCl ₂ . 2H ₂ O	440.00	0.44	4.4
KH ₂ PO ₄	170.00	0.17	1.7
MgSO ₄ . 7H ₂ O	370.00	0.37	3.7
Micronutrientes			
KI	0.83	0.00083	0.0083
H ₃ BO ₃	6.20	0.0062	0.062
MnSO ₄ . 4H ₂ O	12.00	0.02	0.12
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	8.60	0.0086	0.086
Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	0.250	0.00025	0.025

CuSO ₄ . 5H ₂ O	0.025	0.000025	0.00025
CoCl ₂ . 6H ₂ O	0.025	0.000025	0.00025
Sol. De Fierro			
Na ₂ EDTA	37.30	0.0373	0.373
FeSO ₄ . 7H ₂ O	27.80	0.0278	0.278
Vitaminas			
Inositol	100.00	0.1	1
Ac- nicotínico	0.50	0.0005	0.005
Piridoxina-HCl	0.50	0.0005	0.005
Tiamina-HCl	0.10	0.0001	0.001
Glicina	2.00	0.002	0.02
Carbohidratos			
Sacarosa		30	
Solidificante.			
Agar		9	
PH		5.7	

Preparación de solución madre

En la última columna del Cuadro 1 se calcularon las cantidades de cada uno de los componentes del medio necesarios para preparar 10 litros de medio nutritivo MS, concentración a la que se prepararon las soluciones madre (10x). Para preparar la solución de macronutrientes los componentes se pesaron en la balanza analítica, se disolvieron uno a uno en agua desionizada y se aforaron a 300 ml, por lo que se tomaron para cada litro de medio 30 ml de solución madre, el mismo procedimiento se utilizó para preparar la solución madre de micronutrientes, fierro y vitaminas, pero cada uno de estos componentes se disolvieron en 100 ml de agua desionizada, tomándose para preparar cada litro de medio 10 ml. Las soluciones madre se

guardaron en el refrigerador de donde se tomaron cada vez que se preparó el medio nutritivo.

Preparación y esterilización del medio nutritivo.

A partir de las soluciones madre se preparó el medio nutritivo cuyo protocolo se describe a continuación:

- a) Colocar en un matraz el volumen necesario de cada una de las soluciones madre de macronutrientes, micronutrientes, fierro y vitaminas para preparar un litro de medio.
- b) Agregar la solución antioxidante conformada por 100 mg l^{-1} de ácido cítrico y 10 mg l^{-1} de ácido giberelico para evitar la oxidación de los explantes.
- c) Adicionar un volumen menor al final de agua desionizada.
- d) Agregar y disolver la sacarosa.
- e) Aforar al volumen final deseado.
- f) Ajustar a un pH de 5.7, utilizando soluciones 1.0 N de NaOH y 1.0 N de HCl.
- g) Agregar el agar y disolverlo en la parrilla de agitación con calentamiento hasta ebullición y esperar a que se torne transparente.
- h) Colocar 20 ml de medio por frasco de gerber.
- i) Esterilizar el medio en autoclave a 121° C y 1.05 kg cm^{-2} de presión, por 20 minutos.

Trasvase del explante

Una vez que se tuvo listo el medio nutritivo MS se inició el trasvase de las vitroplantas de *Mammillaria plumosa*, esta actividad se llevó a cabo en el área de siembra del laboratorio, dentro de una campana de flujo laminar, es decir bajo condiciones aseptia absoluta .

Se extrajeron los explantes del frasco, se les hizo un corte pequeño en la base y se sembraron 5 vitroplantas por frasco con medio nutritivo MS para inducir el enraizamiento.

Los explantes fueron colocados en el cuarto de incubación, durante 45 días, donde los factores de temperatura (25-30°C), humedad (100-95%) y luminosidad (45-50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) fueron controlados.

Se seleccionaron vitroplantas de 1.5 cm de altura inicial del cuarto de incubación con las siguientes características: 60 con raíz y 0.5 cm de diámetro de planta, 60 con raíz y 1 cm de diámetro, 60 sin raíz y 0.5 cm de diámetro y 60 sin raíz y 1 cm de diámetro. Cada grupo de 60 fue dividido en 3 grupos de 20 vitroplantas cada uno se regó con una solución nutritivas correspondiente (*Anthurium*, *Dianthus* MS al 50%), conformando un total de 12 tratamientos (Cuadro 2).

Se evaluó altura, diámetro y porcentaje de sobrevivencia de las plantas. El porcentaje de sobrevivencia del material vegetal se evaluó por conteo de plantas vivas. Se hicieron mediciones cada 15 días para observar crecimiento

en las plantas. La evaluación se realizó a los 40 y 60 días después del trasplante.

Aclimatización de *Mammillaria plumosa*

Antes de transferir las vitroplantas al invernadero, se preparó el sustrato con peat moss (turba), perlita y arena de arroyo en proporción 4:4:1 y se esterilizó durante 2 horas a 120 °C en el autoclave.

Las vitroplantas se llevaron al invernadero, donde fueron sacadas del frasco para eliminar el medio nutritivo adherido a las raíces o a la base de la planta, con agua corriente; en seguida las plantas fueron sumergidas durante 3 minutos en bactericida-fungicida 2 mg^l⁻¹ para evitar la presencia de enfermedades, y finalmente fueron sumergidas durante 2 minutos en solución de Raizal 2.5 gl⁻¹ para asegurar el enraizamiento de las vitroplantas.

Las vitroplantas se sembraron en macetas de 2 pulgadas de diámetro en donde previamente se colocó el sustrato, después se formó un hueco en el centro del sustrato donde la planta fue colocada. Las macetas fueron acomodadas en charolas de plástico de 40 x 60 cm, estas se colocaron en el interior de una cámara plástica para mantener los niveles de humedad arriba del 90% y se les agregó la solución nutritiva correspondiente.

Se manejaron tres soluciones nutritivas, dos corresponden a las soluciones nutritivas recomendadas por Sonneveld (1994), el tercero medio de Murashige y

Skoog (MS al 50%), que se consideró como testigo, con ellas regaron las plántulas.

Estas se cambiaban cada semana (Cuadro 2).

Cuadro 2. Tratamientos utilizados para la aclimatización en invernadero de vitroplantas de *Mammillaria plumosa*. Verano 2004.

Soluciones nutritivas	Con Raíz / Sin Raíz	Diámetro de la planta en Cms.	Trats.
A	Con	Diámetro de la planta 1	1
		Diámetro de la planta 0.5	2
	Sin	Diámetro de la planta 1	3
		Diámetro de la planta 0.5	4
B	Con	Diámetro de la planta 1	5
		Diámetro de la planta 0.5	6
	Sin	Diámetro de la planta 1	7
		Diámetro de la planta 0.5	8
C	Con	Diámetro de la planta 1	9
		Diámetro de la planta 0.5	10
	Sin	Diámetro de la planta 1	11
		Diámetro de la planta 0.5	12

Preparación de las soluciones nutritivas

Se prepararon 3 soluciones nutritivas dos recomendadas por Sonneveld (1994) que son soluciones ideales para *Anthurium* y para *Dianthus*, y el medio nutritivo MS al 50% (Cuadro 3).

Cuadro 3. Soluciones nutritivas utilizadas para la aclimatización de vitroplantas de *Mammillaria plumosa* en invernadero. Verano 2004.

Solución Nutritiva	meq l ⁻¹	mg l ⁻¹

	CE (mS* cm ⁻¹)	NH ₄	K	Ca	Mg	NO ₃	SO ₄	H ₂ PO ₄	Fe	Mn	Zn	B	Cu	Mo
<i>Anthurium</i>	0.8	0.8	3	3	0.4	4.5	2	0.7	0.84	0.2	0.22	0.22	0.03	0.05
<i>Dianthus</i>	1.1	0.75	4	3.3	1.2	7.0	1.4	0.8	1.1	0.28	0.20	0.22	0.04	0.05
MS 50%	mg l ⁻¹													
	NH ₄ NO ₃	H ₃ BO ₃	CaCl ₂	CoCl ₂	CuSO ₄	FeSO ₄	MgSO ₄	KI						
	1650	6.3	440	0.025	0.025	27.8	370	0.83						
	mg l ⁻¹													
	KNO ₃	KH ₂ PO ₄	Na ₂ EDTA	Na ₂ MoO ₄	Zn SO ₄									
	1900	170	37.3	0.25	8.6									

Primero se realizaron los cálculos para poder determinar y preparar las soluciones nutritivas(Cuadros 4-9).

Cuadro 4. Combinación de elementos para la solución nutritiva recomendada para Anthurium. Verano 2004.

Meq l ⁻¹	NO ₃	H ₂ PO ₄	SO ₄	Total
NH ₄	0.8			0.8
K	0.7	0.7	1.6	3
Ca	3			3
Mg			0.4	0.4
H				
Total	4.5	0.7	2	7.2

Cuadro 5. Cantidades necesarias para la preparación de macronutrientes de solución nutritiva recomendada para Anthurium . Verano 2004.

	meq l ⁻¹	Pe en g	Factor g l ⁻¹	g 10 l ⁻¹
NH ₄ NO ₃	0.8	80	0.08 x 0.8 = 0.064	0.64
K NO ₃	0.7	101	0.101 x 0.7 = 0.0707	0.707
Ca(NO ₃) ₂	3	164	0.164 x 3 = 0.492	4.92
K H₂PO₄	0.7	135	0.135 x 0.7 = 0.0945	.945
K ₂ SO ₄	1.6	174	0.174 x 1.6 = 0.278	2.78
Mg SO ₄	0.4	120	0.120 x 0.4 = 0.048	0.48

Cuadro 6. Cantidades necesarias para la preparación de micronutrientes de solución nutritiva recomendada para *Anthurium* . Verano 2004.

	meq l ⁻¹	g l ⁻¹	g 10 l ⁻¹
Fe	0.84	0.0084	0.084
Mn	0.2	0.002	0.02
Zn	0.22	0.0022	0.022
B	0.22	0.0022	0.022
Cu	0.03	0.0003	0.003
Mo	0.05	0.0005	0.005

Cuadro 7. Combinación de elementos para la solución nutritiva recomendada para *Dianthus*. Verano 2004.

Meq l ⁻¹	NO ₃	H ₂ PO ₄	SO ₄	Total
NH₄	0.5		0.2	0.7
K	3.2	0.8		4
Ca	3.3			3.3
Mg			1.2	1.2
H				
Total	7	0.8	1.4	9.2

Cuadro 8. Cantidades necesarias para la preparación de macronutrientes de solución nutritiva recomendada para *Dianthus* . Verano 2004.

	meq l ⁻¹	Pe en g	Factor g l ⁻¹	g 10 l ⁻¹
NH₄NO₃	0.5	80	0.08 x 0.5 = 0.04	0.4
K NO₃	3.2	101	0.101 x 3.2 = 0.323	3.23
Ca(NO₃)₂	3.3	164	0.164 x 3.3 = 0.541	5.41
K H₂PO₄	0.8	135	0.135 x 0.8 = 0.108	1.08
(NH₄)₂SO₄	0.2	132	0.132 x 0.2 = 0.026	0.26
Mg SO₄	1.2	120	0.120 x 1.2 = 0.144	1.44

Cuadro 9. Cantidades necesarias para la preparación de micronutrientes de solución nutritiva recomendada para *Dianthus*. Verano 2004.

	meq l ⁻¹	g l ⁻¹	g 10 l ⁻¹
Fe	1.1	0.0011	0.011
Mn	0.28	0.0028	0.028
Zn	0.20	0.0020	0.020
B	0.22	0.0022	0.022
Cu	0.04	0.0004	0.003
Mo	0.05	0.0005	0.005

Procedimiento

Para la obtención de las soluciones nutritivas de *Anthurium* y *Dianthus* se elaboraron soluciones madre estériles de la siguiente manera:

- a) Pesar cada uno de los reactivos marcados en los cuadros 5, 6, 8 y 9 .
- b) Colocar en tres frascos, uno de macronutrientes sin el calcio, otro fue exclusivo para el calcio para evitar precipitados y en el último los micronutrientes.
- c) Disolver en agua destilada.
- d) Tomar las cantidades necesarias para preparar un litro de medio.
- e) Ajustar el pH a 5.7 - 5.8 para cada solución, con 1.0 N de NaOH y 1.0 N de HCl.

MS al 50%

La preparación del medio nutritivo fue similar a la descrita anteriormente, solo que el medio se diluyó al 50% de su concentración original.

Se evaluó altura, diámetro y porcentaje de sobrevivencia de las plantas. El porcentaje de sobrevivencia del material vegetal se evaluó por conteo de plantas vivas. La evaluación se realizó a los 40 y 60 días después del trasplante.

Análisis estadístico

Para el análisis de los datos obtenidos se utilizó un Completamente al Azar con Arreglo Factorial, donde el factor A correspondió a soluciones nutritivas, el factor B a plantas con y sin raíz y el factor C plantas de 1 cm y 0.5 cm de diámetro de la planta tres factores, con 5 repeticiones.

Sea el modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \lambda_k + \alpha\lambda_{ik} + \beta\lambda_{jk} + \alpha\beta\lambda_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

$$i = 1,2,3\dots a$$

$$j = 1,2,3\dots b$$

$$k = 1,2,3\dots c$$

$$l = 1,2,3\dots r$$

Donde:

- Y_{ijkl} : variable respuesta correspondiente al i – ésimo tratamiento y a la l – ésima repetición.
- μ : Media general (efecto general)
 - α_i : Efecto del i – ésimo tratamiento
 - β_j : Efecto del j – ésimo tratamiento
 - $\alpha\beta_{ij}$: Efecto del ij – ésimo tratamientos
 - λ_k : Efecto del k – ésimo tratamiento
 - $\alpha\lambda_{ik}$: Efecto del ik – ésimo tratamientos
 - $\beta\lambda_{jk}$: Efecto del jk – ésimo tratamientos
 - $\alpha\beta\lambda_{ijk}$: Efecto del ijk – ésimo tratamientos
 - ϵ_{ijkl} : Error aleatorio, error experimental, variación debida al azar o variación del muestreo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el enraizamiento *in vitro* de *Mammillaria plumosa* se generó un buen número de plántulas con raíz de los cuales se seleccionaron 120 plantas de *M. plumosa*, 60 de 0.5 cm de diámetro y 60 de 1 cm de diámetro para establecer la fase de aclimatización.

Aclimatización de *Mammillaria plumosa*.

Una vez concluido el trabajo de aclimatización de las vitroplantas de *Mammillaria plumosa* se procedió al análisis de los datos colectados que se describen a continuación:

El análisis de varianza para altura de planta a los 40 días de aclimatización de *Mammillaria plumosa* en invernadero (Cuadro 10), mostró un Coeficiente de Variación del 26.72% , lo que indica que los resultados obtenidos son válidos estadísticamente. El factor A (soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50%) no presentó significancia, el factor B (plantas con y sin raíz) fue significativo y el factor C (diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm), resultó altamente significativo.

En las interacciones A x B (soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50% y plantas con y sin raíz), A x C (soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50% y diámetros iniciales de la plantas de 0.5 y 1 cm), B x C (plantas con y sin raíz y diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1cm) y A x B x C (soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50%, plantas con y sin raíz y diámetros iniciales de la plantas de 0.5 y 1 cm) no mostraron significancia.

Cuadro 10. Análisis de varianza para altura de planta a los 40 días de aclimatización de *Mammillaria plumosa* en invernadero. Verano 2004.

FV	GL	SC	CM	F
FACTOR A	2	1.304382	0.652191	1.3525 NS

FACTOR B	1	3.700195	3.700195	7.6731 *
FACTOR C	1	13.160217	13.160217	27.2904**
A X B	2	2.902283	1.451141	3.0092 NS
A X C	2	0.856232	0.428116	0.8878 NS
B X C	1	0.541473	0.541473	1.1229 NS
A X B X C	2	1.588074	0.794037	1.6466 NS
ERROR	48	23.146973	0.4822292.41	
TOTAL	59	47.199829		
C.V. = 26.7259%			NS= 0.05 – 0.01	

*CV. Coeficiente de varianza.

*NS. Nivel de Significancia

El análisis de varianza para altura de planta a los 60 días de aclimatización de *Mammillaria plumosa* en invernadero (Cuadro 11), mostró un Coeficiente de Variación del 24.79%, lo que indica que los resultados obtenidos son válidos estadísticamente. Al igual que a los 40 días de aclimatización, el factor A (soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50%) no presentó significancia, el factor B (plantas con y sin raíz) fue significativa y el factor C (diámetros iniciales de la plantas de 0.5 y 1 cm), fue altamente significativa.

En las interacciones A x B (soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50% y plantas con y sin raíz) A x C (soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50% y diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm), B x C (plantas con y sin raíz y diámetros iniciales de plantas 0.5 y 1 cm) y A x B x C (soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50%, plantas con y sin raíz y diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm) no mostraron significancia.

Cuadro 11. Análisis de varianza para altura de planta a los 60 días de aclimatización de *Mammillaria plumosa* en invernadero. Verano 2004.

FV	GL	SC	CM	F
FACTOR A	2	2.169098	1.084549	2.2797 NS
FACTOR B	1	4.510132	4.510132	9.4800 *
FACTOR C	1	12.467224	12.467224	26.2053 **
A X B	2	3.200226	1.600113	3.3633 NS
A X C	2	1.200165	0.600082	1.2613 NS
B X C	1	0.875885	0.875885	1.8411 NS
A X B X C	2	1.450470	0.725235	1.5244 NS
ERROR	48	22.836090	0.475752	
TOTAL	59	48.709290		
C.V. = 24.7888%			NS= 0.05 – 0.01	

La prueba de medias DMS (0.05) para altura de planta de *M. plumosa* del factor B (diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm) a los 40 y 60 días de aclimatización, mostró diferencias significativas entre tratamientos, encontrando plantas mas altas (3.2 cm) en el tratamiento 2, plantas de diámetro inicial de 1cm, y el peor fue: el tratamiento 1, plantas de diámetro inicial de 0.5 cm. (Cuadro 12).

Cuadro12. Prueba de medias (DMS 0.05) para altura de planta de *M. plumosa* con diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización. Verano 2004.

Altura de planta (cm) a los 40 días			Altura de planta (cm) a los 60 días		
T2	3.066667	A	T2	3.238334	A
T1	2.130000	B	T1	2.326667	B
DMS= 0.2076			DMS= 0.1846		

La prueba de medias DMS (0.05) para altura de planta de *M. plumosa* en la interacción A x B (soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50% y plantas con y sin raíz) a los 40 y 60 días de la aclimatización, mostró que los mejores tratamientos fueron: T3, solución nutritiva para *Anthurium* en plantas con raíz, T5, solución nutritiva para *Dianthus* en plantas con raíz y T1, solución de MS al 50% en plantas con raíz y el peor fue: T4, solución nutritiva de *Anthurium* en plantas sin raíz. Esto debido a que se presentó una pérdida significativa de las plantas a causa de la intensidad de luz, que no se controló debidamente en el invernadero (Cuadro 13).

Cuadro 13. Prueba de medias (DMS 0.05) para altura de planta de *M. plumosa* en la interacción soluciones nutritivas y plantas con y sin raíz a los 40 días y 60 días de aclimatización. Verano 2004.

Altura de planta (cm) a los 40			Altura de planta (cm) a los 60 días		
T3	2.9650	A	T3	3.1400	A
T5	2.8200	A	T5	3.0800	A
T1	2.7550	A	T1	2.9500	A
T6	2.7200	AB	T6	2.9350	A
T2	2.4750	AB	T2	2.6450	AB
T4	1.8550	B	T4	1.9450	B
DMS= 0.8839			DMS= 0.8780		

La prueba de medias DMS (0.05) para altura de planta de *M. plumosa* en la interacción A x C (soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50% y diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm) a los 40 y 60 días de aclimatización, indicó que los mejores tratamientos fueron: T6 y T2, solución nutritiva para *Dianthus* y solución nutritiva de MS al 50% en plantas con diámetro inicial de 1 cm y el peor fue: T1, soluciones nutritivas para *Dianthus*, *Anthurium* y MS al 50% en plantas con diámetro inicial de 0.5 cm. (Cuadro 14).

Cuadro 14. Prueba de medias (DMS 0.05) para altura de plantas de *M. plumosa* en la interacción soluciones nutritivas y diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización. Verano 2004.

Altura de planta (cm) a los 40 días			Altura de planta (cm) a los 60 días		
T6	3.3350	A	T6	3.5850	A
T2	3.1550	A	T2	3.3300	A
T4	2.7100	AB	T4	2.8000	AB
T5	2.2050	B	T5	2.4300	B

T3	2.1100	B	T3	2.2850	B
T1	2.0750	B	T1	2.2650	B
DMS= 0.8839			DMS= 0.8780		

La prueba de medias DMS (0.05) para altura de planta de *M. plumosa* en la interacción B x C (plantas con y sin raíz y diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm) a los 40 y 60 días de aclimatización, se encontró que el mejor tratamiento fue: T2, plantas con raíz y diámetro inicial de plantas de 1 cm y los peores fueron: T1 y T3, plantas con y sin raíz con diámetro inicial de plantas de 0.5 cm. (Cuadro 15).

Cuadro 15. Prueba de medias (DMS 0.05) para altura de plantas de *M. plumosa* en la interacción plantas con y sin raíz y diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización. Verano 2004.

Altura de planta (cm) a los 40 días			Altura de planta (cm) a los 60 días		
T2	3.4100	A	T2	3.6333	A
T4	2.7233	AB	T4	2.8433	AB
T1	2.2833	B	T1	2.4800	B
T3	1.9767	B	T3	2.1733	B
DMS= 0.8839			DMS= 0.8780		

La prueba de medias DMS (0.05) para altura de planta de *M. plumosa* en la interacción de los tres factores ABC (soluciones nutritivas *Anthurium*, *Dianthus* y MS AL 50% y diámetros iniciales de planta) a los 40 y 60 días de aclimatización se encontró que los mejores tratamientos fueron: T2, T6 y T12 que corresponden a solución de MS al 50% y solución nutritiva para *Anthurium* en plantas con raíz, solución nutritiva para *Dianthus* en plantas sin raíz, todas de diámetros iniciales de plantas de 1 cm y el peor fue: T7, solución nutritiva para *Anthurium* en plantas sin raíz y con diámetro inicial de plantas de 0.5 cm. (Cuadro 16).

Cuadro 16. Prueba de medias (DMS 0.05) para altura de plantas de *M. plumosa* en la interacción soluciones nutritivas, plantas con y sin raíz y

diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización. Verano 2004.

Altura de planta (cm) a los 40 días			Altura de planta (cm) a los 60 días		
T2	3.5100	A	T2	3.6900	A
T6	3.4700	A	T6	3.6500	A
T12	3.4200	A	T12	3.6100	A
T10	3.2500	AB	T10	3.5600	A
T4	2.8000	ABC	T4	2.9700	AB
T5	2.4600	BCD	T5	2.6300	BC
T9	2.3900	BCD	T9	2.6000	BC
T3	2.1500	CD	T3	2.3200	BC
T11	2.0200	CD	T11	2.2600	BC
T1	2.0000	CD	T1	2.2100	BC
T8	1.9500	CD	T8	1.9500	C
T7	1.7600	D	T7	1.9400	C
DMS= 0.8839			DMS= 0.8780		

El análisis de varianza para diámetro de planta a los 40 días de aclimatización de *Mammillaria plumosa* en invernadero (Cuadro 17), mostró un Coeficiente de Variación del 13.11% , lo que indica que los resultados obtenidos son válidos estadísticamente. El factor A (soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50%) presentó significancia, el factor C (plantas con y sin raíz) no fue significativa mientras que el factor C (diámetros iniciales de planta de 0.5 y 1 cm), fue altamente significativo.

En las interacciones A x B (soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50% y plantas con y sin raíz), A x C (soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50% y diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm), B x C (plantas con y sin raíz y diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm) y A x B x C (soluciones

nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50% y plantas con y sin raíz y diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1cm) no mostraron significancia.

Cuadro 17. Análisis de varianza para diámetro de planta a los 40 días de aclimatización de *Mammillaria plumosa* en invernadero. Verano 2004.

FV	GL	SC	CM	F	
FACTOR A	2	0.634079	0.317039	11.9169	*
FACTOR B	1	0.000038	0.000038	0.0014	NS
FACTOR C	1	1.962036	1.962036	73.7492	**
A X B	2	0.081085	0.040543	1.5239	NS
A X C	2	0.155586	0.077793	2.9241	NS
B X C	1	0.012047	0.012047	0.4528	NS
A X B X C	2	0.003578	0.001789	0.0672	NS
ERROR	48	1.277000	0.026604		
TOTAL	59	4.125450			
C.V. = 13.1098%			NS= 0.05 – 0.01		

El análisis de varianza para diámetro de planta a los 60 días de aclimatización de *Mammillaria plumosa* en invernadero (Cuadro 18), mostró un Coeficiente de Variación del 9.95%, lo que indica que los resultados obtenidos son válidos estadísticamente. Al igual que a los 40 días de aclimatización, El factor A (soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50%) presentó significancia, el factor C (plantas con y sin raíz) no fue significante y factor C (diámetros iniciales de planta de 0.5 y 1 cm), fue altamente significativo.

En las interacciones A x B (soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50% y plantas con y sin raíz), A x C (soluciones nutritivas para *Anthurium*,

Dianthus y MS al 50% y diámetros iniciales de planta de 0.5 y 1cm), B x C (plantas con y sin raíz y diámetros iniciales de planta de 0.5 y 1 cm) y A x B x C (soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50% y plantas con y sin raíz y diámetros iniciales de 0.5 y 1cm) no mostraron significancia.

Cuadro 18. Análisis de varianza para diámetro de planta a los 60 días de aclimatización de *Mammillaria plumosa* en invernadero. Verano 2004.

FV	GL	SC	CM	F
FACTOR A	2	0.490738	0.245369	11.6610 *
FACTOR B	1	0.000031	0.000031	0.0015 NS
FACTOR C	1	2.340378	2.340378	111.2248 **
A X B	2	0.049095	0.024548	1.1666 NS
A X C	2	0.127747	0.063873	3.0355 NS
B X C	1	0.000366	0.000366	0.0174 NS
A X B X C	2	0.015755	0.007877	0.3744 NS
ERROR	48	1.010010	0.021042	
TOTAL	59	4.034119		
C.V. = 9.9525%			NS= 0.05 – 0.01	

La prueba de medias DMS (0.05), para diámetro de planta de *M. plumosa* del factor A, soluciones nutritivas a los 40 y 60 días de aclimatización, indicó que hubo diferencia entre tratamientos, el mejor tratamiento fue: T1, solución nutritiva de MS al 50% y el peor fue: T2, solución para *Anthurium*. (Cuadro 19).

Cuadro 19. Prueba de medias (DMS 0.05) para diámetro de planta de *M. plumosa* de solución nutritiva a los 40 y 60 días de aclimatización. Verano 2004.

Diámetro de planta (cm) a los 40 días			Diámetro de planta (cm) a los 60 días		
T1	1.332500	A	T1	1.530000	A
T3	1.300000	AB	T3	1.512500	AB
T2	1.100000	B	T2	1.330000	B
DMS= 0.2076			DMS= 0.1846		

La prueba de medias DMS (0.05) para diámetro de planta de *M. plumosa* con diámetro inicial de planta de 0.5 y 1 cm mostraron diferencias significativas entre tratamientos, el mejor tratamiento fue: T2, plantas de diámetro inicial de 1 cm, seguido de T1 plantas con diámetro inicial de 0.5 cm. (Cuadro 20).

Cuadro 20. Prueba de medias (DMS 0.05) para diámetro de plantas de *M. plumosa* con diámetros iniciales de 0.5 y 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización. Verano 2004.

Diámetro de planta (cm) a los 40 días			Diámetro de planta (cm) a los 60 días		
T2	1.063333	A	T2	1.655000	A
T1	1.425000	B	T1	1.260000	B
DMS= 0.2076			DMS= 0.1846		

La prueba de medias DMS (0.05) para diámetro en planta de *M. plumosa* en la interacción A x B, soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50% y plantas con y sin raíz a los 40 y 60 días de aclimatización, indicó que el mejor tratamiento fue: T1, solución de MS al 50% en plantas con raíz, y el peor fue: T3, solución nutritiva de *Anthurium* en plantas con raíz. (Cuadro 21).

Cuadro 21. Prueba de medias (DMS 0.05) para diámetro de planta de *M. plumosa* en la interacción entre soluciones nutritivas y plantas con y sin raíz a los 40 y 60 días de aclimatización. Verano 2004.

Diámetro de planta (cm) a los 40 días			Diámetro de planta (cm) a los 60 días		
T1	1.3850	A	T1	1.5650	A
T6	1.3200	AB	T5	1.5150	AB
T5	1.2800	AB	T6	1.5100	AB

T2	1.2800	AB	T2	1.4950	AB
T4	1.1300	BC	T4	1.3650	BC
T3	1.0700	C	T3	1.2950	C
DMS= 0.2076			DMS= 0.1846		

La prueba de medias DMS (0.05) para diámetro de planta de *M. plumosa* en la interacción A x C, soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50% y diámetros iniciales de planta de 0.5 y 1cm a los 40 y 60 días de aclimatización, indicó que los mejores tratamientos fueron: T2 y T6, solución de MS al 50% y solución para *Dianthus* en plantas de diámetro inicial de 1 cm y el peor tratamiento fue: T3, solución nutritiva para *Anthurium* en plantas con diámetro inicial de 0.5 cm.

(Cuadro 22).

Cuadro 22. Prueba de medias (DMS 0.05) para diámetro de planta de *M. plumosa* en la interacción entre soluciones nutritivas y diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización. Verano 2004.

Diámetro de planta (cm) a los 40 días			Diámetro de planta (cm) a los 60 días		
T2	1.5600	A	T2	1.7750	A
T6	1.5050	A	T6	1.7250	A
T4	1.2100	B	T4	1.4650	B
T1	1.1050	BC	T5	1.3000	BC
T5	1.0950	BC	T1	1.2850	BC
T3	0.9900	C	T3	1.1950	C
DMS= 0.2076			DMS= 0.1846		

La prueba de medias DMS (0.05) para diámetro de planta de *M. plumosa* en la interacción B x C, plantas con y sin raíz y plantas con diámetro inicial de planta de 0.5 y 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización, mostró que los mejores tratamientos fueron: T2, plantas con raíz y diámetro inicial de planta de 1 cm y T4 plantas sin raíz con diámetro inicial de planta de 1 cm y el peor fue: T1, plantas con raíz con diámetro inicial de planta de 0.5 cm (Cuadro 23).

Cuadro 23. Pruebas de medias (DMS 0.05) para diámetro de planta de *M. plumosa* en la interacción plantas con y sin raíz y diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización. Verano 2004.

Diámetro de planta (cm) a los 40 días			Diámetro de planta (cm) a los 60 días		
T2	1.4400	A	T4	1.6567	A
T4	1.4100	A	T2	1.6533	A
T3	1.0767	B	T1	1.2633	B
T1	1.0500	B	T3	1.2567	B
DMS= 0.2076			DMS= 0.1846		

La prueba de medias DMS (0.05) para diámetro de planta de *M. plumosa* en la interacción de los tres factores (soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50%, plantas con y sin raíz y diámetro inicial de planta), indicó que los mejores tratamientos fueron: T2, T10, T4 y T12 que corresponden a solución de MS al 50% y solución nutritiva para *Dianthus* en plantas con raíz y solución de MS al 50% en plantas sin raíz todas con diámetro inicial de 1 cm. Al igual que T8, solución nutritiva para *Anthurium* en plantas sin raíz. El peor tratamiento fue: T5, solución nutritiva para *Anthurium* en plantas con raíz y 0.5 cm. (Cuadro 24).

Cuadro 24. Pruebas de medias (DMS 0.05) para diámetro de planta de *M. plumosa* en la interacción soluciones nutritivas, plantas con y sin raíz y diámetros iniciales de 0.5 y 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización. Verano 2004.

Diámetro de planta (cm) a los 40 días			Diámetro de planta (cm) a los 60 días		
T2	3.5100	A	T2	3.6900	A
T10	3.4700	A	T12	3.6500	A
T4	3.4200	A	T4	3.6100	A
T12	3.2500	A	T10	3.5600	A
T8	2.8000	B	T8	2.9700	A
T6	2.4600	B	T6	2.6300	B
T1	2.3900	BC	T9	2.6000	BC
T11	2.1500	BC	T1	2.3200	CD
T3	2.0200	BC	T11	2.2600	CD
T9	2.0000	BC	T3	2.2100	CD
T7	1.9500	BC	T7	1.9500	D
T5	1.7600	C	T5	1.9400	D
DMS= 0.2076			DMS= 0.1846		

Sobrevivencia de las plantas de *Mammillaria plumosa* a los 40 días de aclimatización en invernadero

Se evaluó la sobrevivencia de las plantas de *M. plumosa* a los 40 y 60 días después de la siembra en cada tratamiento (Cuadro 25). A los 40 y 60 días de aclimatización en solución nutritiva de MS al 50%, se encontró que en plantas con raíz y con diámetros iniciales de plantas de 1 cm hubo un 100% de sobrevivencia y en plantas con raíz y con diámetros iniciales de plantas de 0.5 cm el 90%(figura 2) en la misma solución nutritiva en plantas sin raíz y diámetros iniciales de plantas de 1 cm a los 40 días de aclimatización resultó un 90% de sobrevivencia y a los 60 días un 85% de sobrevivencia en plantas sin raíz con diámetros iniciales de plantas de 0.5 cm se presentó una sobrevivencia a los 40 y 60 días de aclimatización del 100%.

En solución nutritiva para *Dianthus* a los 40 y 60 días de aclimatización en plantas con raíz y con diámetro inicial de 1 cm hubo 90% de sobrevivencia, en plantas con raíz y diámetros iniciales de .5 cm se presentó 100% de sobrevivencia a los 40 días y 90% a los 60 días. En plantas sin raíz y diámetros iniciales de 1 cm a los 40 días de aclimatización se presentó 100% de sobrevivencia y 95% a los 60 días. En plantas sin raíz con diámetros iniciales de 0.5 cm hubo 100% de sobrevivencia a los 40 días de aclimatización y 90% a los 60 días.

En solución nutritiva para *Anthurium* a los 40 días de aclimatización en plantas con raíz y diámetros iniciales de 1 cm se presentó una sobrevivencia de 90% y a los 60 días del 70%, en plantas con raíz y con diámetros iniciales de plantas de 0.5 cm hubo 100% de sobrevivencia a los 40 días de climatización y 90% a los 60 días. En plantas sin raíz con diámetros iniciales de 1 cm se presentó el 80% de sobrevivencia a los 40 días de aclimatización y 70% a los 60 días, en plantas sin raíz con diámetros iniciales de 0.5 cm se presentó el 100% de sobrevivencia a los 40 días y 90% a los 60 días.

En la figura 2 se muestra el porcentaje de sobrevivencia de plantas de *M. plumosa* con raíz para diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización en las soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50%, en el se puede observar que la solución nutritiva para *Dianthus* fue la que presentó altos porcentajes de sobrevivencia a los 40 y 60 días de aclimatización de *M. plumosa* en plantas con raíz y diámetros iniciales de 1 cm y 0.5 cm y la solución nutritiva para *Anthurium* presentó bajo porcentaje de sobrevivencia de diámetro inicial de 1 cm a los 60 días de aclimatización de *M. plumosa*.

En la figura 3 se muestra el porcentaje de sobrevivencia de plantas de *M. plumosa* sin raíz de 0.5 y 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización en las soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50% presentaron porcentajes mas altos de sobrevivencia a los 40 días y a los 60 días de aclimatización disminuye el porcentaje de sobrevivencia de *M. plumosa*.

Cuadro 25. Porcentaje de sobrevivencia de aclimatización de plantas de *Mammillaria plumosa* con y sin raíz a los 40 y 60 días. Verano 2004.

Soluciones Nutritivas	40 días				60 días			
	% c/r		% s/r		% c/r		% s/r	
	1cm	0.5cm	1cm	0.5cm	1cm	0.5cm	1cm	0.5cm
MS 50 %	100	90	90	100	100	90	85	100
<i>Dianthus</i>	90	100	100	100	90	90	95	90
<i>Anthurium</i>	90	100	80	100	70	90	70	90

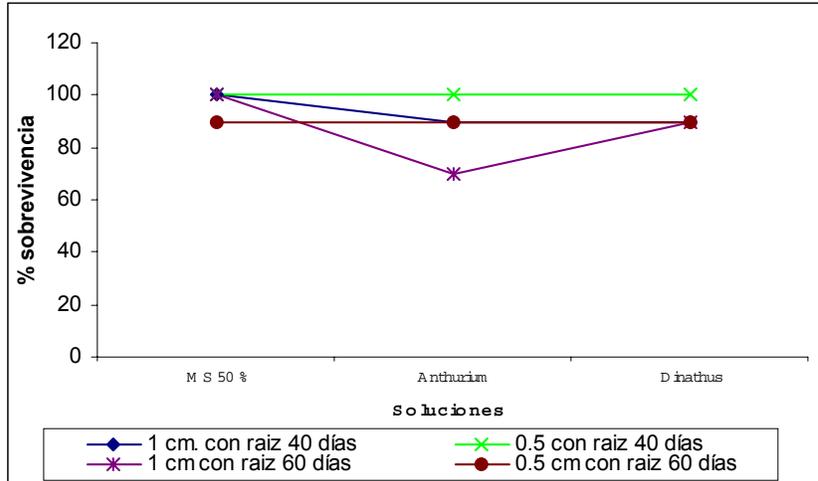


Figura 2. Porcentaje de sobrevivencia de plantas de *Mammillaria plumosa* con raíz para diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización de soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50%.

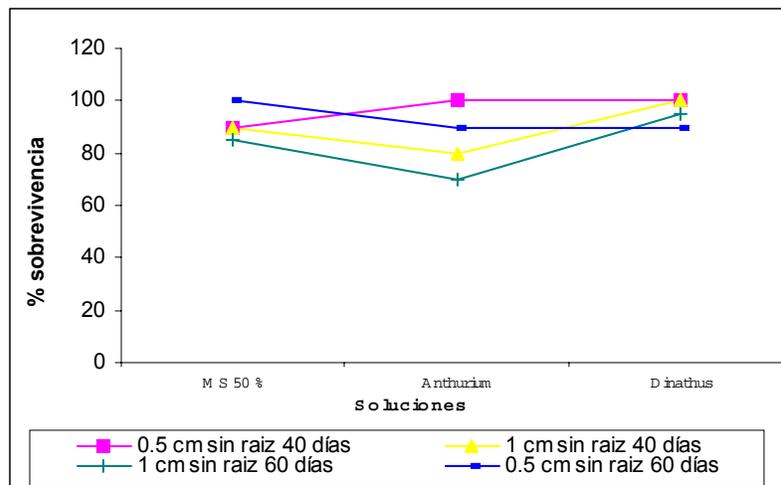


Figura 3. Porcentaje de sobrevivencia de plantas de *Mammillaria plumosa* sin raíz para diámetros iniciales de plantas de 0.5 y 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización de soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50%.

días de aclimatización de soluciones nutritivas para *Anthurium*, *Dianthus* y MS al 50%.

En cuanto a sobrevivencia en plantas con raíz a los 40 días las tres soluciones nutritivas fueron similares obteniéndose 90-100% de sobrevivencia. En plantas con raíz y un diámetro inicial de 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización, la mejor solución fue MS al 50% con el 100% de sobrevivencia. Las soluciones nutritivas de *Dianthus* y *Anthurium* tuvieron el 90% de sobrevivencia a los 40 días y a los 60 días la solución nutritiva de *Anthurium* fue la peor, su porcentaje bajo al 70%.

En plantas con raíz y diámetros iniciales de 0.5 cm las mejores soluciones nutritivas a los 40 días de aclimatización fueron *Dianthus* y *Anthurium* presentándose el 100% de sobrevivencia. En plantas sin raíz y diámetros iniciales de 1 cm a los 40 y 60 días de aclimatización de *M. plumosa* fue la solución nutritiva para *Dianthus* que presentó 100 y 95% respectivamente. La peor solución nutritiva fue la utilizada para *Anthurium* con 70% de sobrevivencia. En plantas sin raíz y diámetros iniciales de 0.5 cm, la solución nutritiva para *Dianthus* fue la mejor con 100% de sobrevivencia a los 40 días de aclimatización y la solución nutritiva de MS al 50% a los 60 días. Cabe aclarar que los datos de porcentaje de sobrevivencia se vieron afectados por la alta intensidad de luz.

En este estudio se encontró que la altura de las plantas de *M. plumosa* a los 40 y 60 días se vieron favorecidas con la presencia de plantas con raíz y con diámetro de 1 cm esto coincide con lo reportado con Soltero (1990) menciona que la mayoría de las especies de cactus propagados producen raíces espontáneamente

en medios de cultivos sin reguladores de crecimiento y el proceso de adaptación es relativamente fácil comparado con otro tipo de plantas.

La utilización de las soluciones nutritivas MS y *Dianthus* así como el diámetro inicial de 1 cm permitieron un mayor aumento en grosor de las plantas de *M. plumosa* durante el proceso de aclimatización a los 40 y 60 días, Imas (1999) menciona que el fertirriego permite adecuar la cantidad y concentración de los nutrientes de acuerdo a la demanda de nutrientes durante el ciclo de crecimiento del cultivo y que además el abastecimiento de nutrientes a los cultivos va de acuerdo a la etapa fisiológica, considerando las características climáticas y del suelo, resulta en altos rendimientos y excelente calidad de los cultivos por el contrario Pierik (1990) menciona que las raíces que crecen en agar son defectuosas por la falta de aireación, carecen de pelos radicales y se necrosan al transplantar las plántulas, lo que provoca una parada en el crecimiento de la planta.

CONCLUSIONES

Se generó un buen número de *Mammillaria plumosa* enraizada *in vitro* de las cuales fue posible seleccionar 120 plantas para establecer la fase de aclimatización.

La altura de las plantas de *Mammillaria plumosa* a los 40 y 60 días se vieron favorecidas con la presencia de plantas con raíz y con diámetro de 1 cm.

Los más altos porcentajes de sobrevivencia de *Mammillaria plumosa* se obtuvieron utilizando la solución nutritiva para *Dianthus*.

Todos los tratamientos usados permitieron la sobrevivencia en *Mammillaria plumosa* por lo que la decisión final para utilizar alguno de ellos dependerá de las exigencias del mercado y de los costos del proceso, ya que en cactáceas el aumento de talla y grosor implica años de crecimiento en campo.

RESUMEN

Esta investigación se realizó en dos fases, la primera se realizó en el laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Departamento de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro y la segunda se desarrollo dentro del invernadero. El objetivo de la investigación fue determinar las condiciones adecuadas para lograr el enraizamiento y la aclimatización de *Mammillaria plumosa* en invernadero.

Se partió de vitroplantas de *Mammillaria plumosa* de las que se trasvasaron en condiciones de esterilidad a frascos de gerber con medio nutritivo de Murashige y Skoog libre de reguladores para inducir el enraizamiento *in vitro*. Se seleccionaron

vitroplantas de 1.5 cm de altura inicial del cuarto de incubación con las siguientes características: 60 con raíz y 0.5 cm de diámetro de planta, 60 con raíz y 1 cm de diámetro, 60 sin raíz y 0.5 cm de diámetro y 60 sin raíz y 1 cm de diámetro. Cada grupo de 60 fue dividido en 3 grupos de 20 vitroplantas cada uno se regó con una solución nutritivas correspondiente (*Anthurium*, *Dianthus* MS al 50%), conformando un total de 12 tratamientos

Se genero un buen numero de *M. plumosa* enraizada *in vitro* de las cuales fue posible seleccionar 120 plantas, 60 de 0.5 cm de diámetro y 60 de 1 cm de diámetro para establecer la fase de aclimatización.

La altura de las plantas de *M. plumosa* a los 40 y 60 días se vieron favorecidas con la presencia de plantas con raíz y con diámetro de 1 cm.

Los mas altos porcentajes de sobrevivencia de *M. plumosa* se obtuvieron utilizando la solución nutritiva para *Dianthus*.

Todos los tratamientos usados permitieron la sobrevivencia en *Mammillaria plumosa* por lo que la decisión final para utilizar alguno de ellos dependerá de las exigencias del mercado y de los costos del proceso, ya que en cactáceas el aumento de talla y grosor implica años de crecimiento en campo.

BIBLIOGRAFÍA

Auge R. Beauchense G., J. Boccon-Gibod., L. Decourtye. 1986. Cultivo *in vitro*.

Editorial científica, S.A. de C.V. 1ª Edición. México, D.F. Pp166,176-177.

Becerra Rosalba, 2000. Las cactáceas, plantas amenazadas por su belleza.

Publicaciones. Año 6, núm.32.

Bravo, H y H. Sánchez-Mejorada, 1991. Las cactáceas de México. Universidad

Nacional Autónoma de México, México D.F. 2° ed. Vol 3. 404pp

Debergh, P.C. 1991. Acclimatization Technique of Plants from *in vitro*. Acta. Horticulture. 289:291-300.

Dodds J. H. And Roberts, L. W. 1990. Plant Tissue Culture. 2nd. Edition. Cambridge University Press. New York. USA. Pp 38-39.

Escalona M. M. 1999. Propagación de la piña (*Ananas comosus* (L) Merr.) en sistemas de inmersión temporal. Tesis de doctorado. Universidad de Ciego de Avila. Cuba. Pp 10-15.

Faucon.Philippe. 1998-2005. Feather Cactus.

Disponible en:

www.desert-tropicals.com/Plants/cactaceae/Mammillariaplumosa.html

Flores C. A. E.y de Luna. 2004. Filogenia del género *Mammillaria*. IV Congreso Mexicano III Latinoamericano y el Caribe de Cactáceas y otras suculentas. Guadalajara, México.

Franco M.I, 1997. legislación y Conservación. En: Comisión Nacional para la Biodiversidad Suculentas Mexicanas: Cactáceas, CONABIO Y CVS Publicaciones, México, p 101-111.

Fontúrbel F. 2002. Micropropagación de un cultivo perenne. *El portal de Biología y Ciencias de la Salud*. No. 7. Chile

Disponible

en:

www.biologia.org/?pid=5000&id=47&page=1.

George E. F. 1996. Plant Propagation by Tissue Culture. Part 1
The Technology. 2nd Edition. British Library Edigton.
England. Pp 4-7

Glass, C.E. 1998. Guía para la identificación de Cactáceas amenazadas de México.
CONABIO, CANTE Ediciones, México. D.F.

Gutierrez C. R. 1998. Estudio de las soluciones nutritivas en el desarrollo de
variedades de frijol. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga,
Perú.

Disponible en: www.monografias.com/trabajos15/cultivo-frijol.html

Hartman H y Kester D.E. 1988. Propagación de Plantas. Editorial Continental S.A.
de C.V. 2^o Edición. México. 760pp

Hernández G.I. 2000. Densidad, distribución y germinación *in vitro* de *Mammillaria
plumosa*. Tesis Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro,
Buena Vista Saltillo, México

Hudson T. T. H. 1987. Propagación de plantas, principios y prácticas. 3^a Edición.
Editorial CECSA. México D.F. Pp 596-601

Hunt, D.R. & N. Taylor. 1990. The genera of Cactaceae: progress towards consensus. *Bradleya*. 8: 85-107.

Hurtado y Merino M.M.E. 2000. Cultivo de Tejidos Vegetales. Editorial Trillas. México. D.F. Pp 49-57, 67-80,

Imas P. 1999. Manejo de Nutrientes por Fertirriego en Sistemas Frutihortícolas XXII Congreso Argentino de Horticultura. Argentina

Disponible en: www.ipipotash.org/present/mdmpfesf.html

Innes C. And Glass. 1991. *Cacti*. Portland House. 320 pp.

Llanos Peada P.H. 2001 Formulaciones Comerciales, Formulas. WALCO S.A. completas. Colombia.

Disponible en: www.dr.calderonlabs.com/Hidroponicos/soluciones1.html

López C E. 1999. Enraizamiento y aclimatación de plantas obtenidas *in vitro*. *CSIC . España*

Disponible en: www.ciencias.uma.es/publicaciones/encuentros3/html

López G., J.J; P.E. Hernández A.; A. Rodríguez G. 1990. Las cactáceas de Coahuila, México. Congreso latinoamericano de Botánica. La Habana, Cuba.

Mayen P. 2002. Norma Oficial Mexicana.

Disponible en: www.espanol.geocities.com/pmayen/listanom059.html

Miller E. V. 1967. Fisiología Vegetal. Unión tipográfica hispano americana S.A. México.

Müller L. E. 1964. Manual de Laboratorio de Fisiología Vegetal. Instituto interamericano de ciencias agrícolas de la OEA. Turrialba, Costa Rica.

Pierik, R. L. M., J. L. Jansen, A. Maasdam y C. M. Binnendijk. 1975. Optimalization of gerbera plantlet production from excised capitulum explants. Sci. Hort. 3: 351-357.

Pierik R.L.M. 1990. Cultivo *in vitro* de las plantas superiores. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 326pp

Smith R. H. 1992. Plant Tissue Culture. Ed. Academic Forest. San Diego California Pp11-13

Soltero Quintana R. 1999. La conservación de cactáceas amenazada Circular Guanabios 1(11):43.

Disponible en:

www.guanabios.org/modules.php?name=news&file=article&sid=103

Soria E.M, A., Carlos Reyes E., Z. Occeguera A. y C. Pereira M. 2000. Micorrización de plantas micropropagadas de caña de azúcar (*Sacharum officinarum*) XII Forum de Ciencia y Técnica de la Estación Provincial de Investigaciones de la Caña de Azúcar. Cuba

Sánchez Mejorada, H. 1982. Problemas en el control del comercio de cactáceas.

Cact. Suc. Méx. 27:27-30

Sociedad Mexicana de Cactología.1999. II Congreso Mexicano. I Congreso Latinoamericano y del Caribe. Oaxaca México.

Vazquez Perez Rogelio. 2004. Producción de tomate bola (*Licopersicon esculentum*, Mill) bajo diferentes sustratos hidropónicos. Tesis Licenciatura. Saltillo Coahuila, México.

Weaver J. R.1996. Reguladores de crecimiento de las plantas en la agricultura. Editorial Trillas. México, D.F.pp17-22

Wehebe A.J. y J.L. Elizondo. 1986. Estudio floístico de las cactáceas del Municipio de Ramos Arizpe, Coahuila. Cact. Suc. Méx., 31 :97-101.

Cultivo *in vitro* y su relación con la biotecnología. 2004

Disponible en :

<http://www.google.com.mx/search?q=cache:NYgXlaFrFolJ:agr.unne.edu.ar/Academica/Ingreso2004/Morfologia.pdf+adaptaci%C3%B3n+de+plantulas+in+vitro&hl=es>

Soluciones Nutritivas. 2002.

Disponible en :

www.oni.escuelas.edu.ar/2002/buenos_aires/hidroponia/variables_y_soluciones_nutritvas.htm

Tipos de Sustrato de Cultivo. 2004.

Disponible en :

[www.infoagro.com/ industria_auxilir/tipo_sustratos3.asp](http://www.infoagro.com/industria_auxilir/tipo_sustratos3.asp)