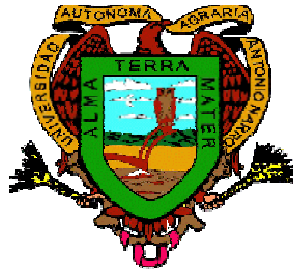


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



**Enraizamiento *in vitro* y Aclimatización de *Mammillaria haageana* subsp.
san-angelensis y *Obregonia denegrii*.**

Por:

MARÍA DE LOS ÁNGELES ACEVEDO CORTÉS

T E S I S

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
Marzo de 2009

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Enraizamiento *in vitro* y Aclimatización de *Mammillaria haageana* subsp. *san-angelensis* y *Obregonia denegrii*.

Presentada por:

María de los Ángeles Acevedo Cortés

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

Ingeniero Agrónomo en Producción

Aprobada por:

M.C. Leticia Escobedo Bocardo
Asesor principal

DR. Mario Ernesto Vázquez Badillo
Coordinador de la División de Agronomía

Buenavista, Saltillo Coahuila, México Marzo 2009.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Enraizamiento *in vitro* y Aclimatización de *Mammillaria haageana* subsp. *san-angelensis* y *Obregonia denegrii*.

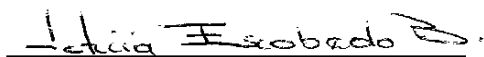
Presentada por:

María de los Ángeles Acevedo Cortés

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

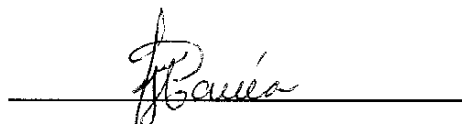
Ingeniero Agrónomo en Producción

Aprobada por:



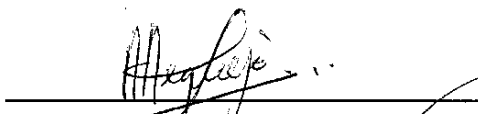
M.C. Leticia Escobedo Bocardo

Asesor principal



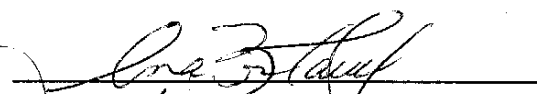
M.C. Hermila Trinidad García Osuna

Sinodal



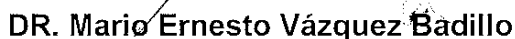
DR. Ricardo Requejo López

Sinodal



M.C. Ana Guadalupe Bertandier de León

“ANTONIO NARRO”
Sinodal



DR. Mario Ernesto Vázquez Badillo

Coordinador de la División de Agronomía

Buenavista, Saltillo Coahuila, México, Marzo 2009

División de Agronomía
Coordinación

DEDICATORIA

Con mucho cariño a mis padres:

Sr. José Acevedo Moreno

Sra. Nicasia Cortés Hernández.

Gracias por brindarme su amor cada día que me alienta a seguir adelante, por sus sabios consejos, por su confianza y apoyo incondicional aun a costa de sacrificios para continuar mis estudios. Que Dios los bendiga siempre.

A mi esposo:

Alfredo López Rueda

Gracias amor por tu apoyo, tus consejos y la confianza depositada en mí.

A mi hija:

Dulce Esmeralda López Acevedo

Quien alienta mis deseos de superación, por su cariño y paciencia.

A mi hermana:

Ruvid Acevedo Cortés

Gracias por todo su cariño, confianza, sacrificios que ha realizado para que yo pudiera terminar mis estudios.

A familiares y amigos que de una u otra forma contribuyeron en mi formación.

AGRADECIMIENTOS

Gracias señor mi Dios por que hasta aquí me has ayudado y tú amor se ha manifestado en mi cada momento, por sostenerme en momentos difíciles y recordarme que me amas dándome la fortaleza para proseguir a la meta.

A mi Alma Mater por abrigarme y darme la oportunidad de formarme en el ámbito profesional.

A mis asesores:

M.C. Leticia Escobedo Bocardo por la orientación en este trabajo, por su tiempo, confianza y por su amistad brindada.

DR. Ricardo Requejo López por valiosa colaboración y consejos

M.C. Hermila Trinidad García Osuna por el apoyo, tiempo dedicado y recomendaciones

M.C. Ana Guadalupe Bertaud de León por su amable colaboración

A todos mis amigos y amigas en especial a:

Biol. Ana María Ochoa por su confianza y útiles enseñanzas

Reyna Rojas García por brindarme su amistad y apoyo incondicional.

Abigail López Cruz por su amistad y compañerismo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	x
RESUMEN	xi
I INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivo general	3
1.2 Objetivos específicos	3
1.2 Hipótesis	3
II REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Clasificación taxonómica de <i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i>	4
2.2 Distribución geográfica	5
2.3 Propagación	6
2.4 Situación ecológica	6
2.5 Clasificación taxonómica de <i>O. denegrii</i>	7
2.6 Distribución geográfica	8
2.7 Propagación	9
2.8 Situación ecológica	9
2.9 Cultivo de tejidos	9
2.10 Etapas de micropropagación	10
2.11 Micropropagación de cactáceas	12
2.12 Sustancias hormonales	14
2.13 Enraizamiento	18
2.14 Aclimatización	18
2.15 Sustratos	20

2.15.1 Tipos de sustratos.....	21
2.15.1.1 Fibra de coco	21
2.15.1.2 Perlita	22
2.15.1.3 Tezontle	23
2.16 Fertirriego.....	25
2.16.1 Ventajas y desventajas del fertirriego	25
2.17 Soluciones nutritivas	26
III MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
3.1 Primera fase: Propagación <i>in vitro</i> de <i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i> y <i>O. denegrii</i>	28
3.1.1 Preparación de soluciones madre.....	28
3.1.2 Preparación del medio nutritivo.....	29
3.2 Segunda fase: Enraizamiento <i>in vitro</i> de <i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i> y <i>O. denegrii</i>	30
3.3 Tercera fase: Aclimatización de <i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i> y <i>O. denegrii</i>	30
3.3.1 Preparación de soluciones nutritivas	32
3.4 Modelo estadístico	33
IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
V CONCLUSIONES.....	51
VI LITERATURA CITADA	52
VII APÉNDICE	57

ÍNDICE DE CUADROS

3.1 Tratamientos evaluados en la aclimatización de <i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i>	32
3.2 Tratamientos evaluados en la aclimatización de <i>O. denegrii</i>	32
4.1 Análisis de varianza para longitud de raíz de <i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i>	35
4.2 Análisis de varianza para la longitud de raíz de <i>O. denegrii</i>	35
4.3 Análisis de varianza para altura de la planta de <i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i>	38
4.4 Análisis de varianza para el diámetro de las planta de <i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i>	38
4.5 Análisis de varianza para longitud de raíz en <i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i>	39
4.6 Comparación de medias correspondiente a la longitud de raíz de <i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i>	40
4.7 Análisis de varianza para peso fresco <i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i>	40
4.8 Prueba de medias para peso fresco <i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i> ...	41
4.9 Análisis de varianza para peso seco de <i>M. haageana</i> subsp. <i>San-angelensis</i>	42
4.10 Prueba de medias para peso seco en <i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i>	42
4.11 Análisis de varianza para altura de planta en <i>O. denegrii</i>	43
4.12 Análisis de varianza para diámetro de planta en <i>O. denegrii</i>	44

4.13 Análisis de varianza para longitud de raíz en <i>O. denegrii</i>	44
4.14 Análisis de varianza para peso fresco en <i>O. denegrii</i>	45
4.15 Análisis de varianza para peso seco en <i>O. denegrii</i>	45
4.16 Comparación de medias para peso seco de <i>O. denegrii</i>	46
4.17 Porcentaje de sobrevivencia para <i>O. denegrii</i>	46

ÍNDICE DE FIGURAS

2.1 Distribución de <i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i>	5
2.2 Distribución de <i>O. denegrii</i>	8
4.1 Propagación <i>in vitro</i> de <i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i> y <i>O.</i> <i>denegrii</i>	34
4.2 Enraizamiento <i>in vitro</i> de <i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i> T1, T2, T3 ...	36
4.3 Enraizamiento <i>in vitro</i> de <i>O. denegrii</i> T1, T2, T3.....	36
4.4 Aclimatización de plantas de <i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i> y <i>O.</i> <i>denegrii</i>	37
4.5 Porcentaje de sobrevivencia en <i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i> y <i>O.</i> <i>denegrii</i>	47
4.6 Vitroplantas de <i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i> y <i>O. denegrii</i> después de manejo de aclimatización	48

RESUMEN

M. haageana subsp. ***san-angelensis*** está en la categoría en peligro de extinción (P) y ***O. denegrii*** como especie amenazada según la Norma Oficial Mexicana debido a su lento crecimiento, alto grado de endemismo y por su aspecto exótico. Una acción conveniente para salvaguardarlas es la utilización de cultivo de tejidos vegetales por lo que los objetivos del presente estudio fueron: 1). Probar diferentes concentraciones de ácido salicílico en el enraizamiento *in vitro* de brotes de ***M. haageana*** subsp. ***san-angelensis*** y ***O. denegrii*** y 2). Evaluar las combinaciones de dos mezclas de sustratos y dos soluciones nutritivas en la aclimatización de plántulas de ***M. haageana*** subsp. ***san-angelensis*** y ***O. denegrii***. El trabajo se dividió en tres fases:

1. Primera fase: Propagación *in vitro* de ***M. haageana*** subsp. ***san-angelensis*** y ***O. denegrii***. La primera etapa consistió en propagar las especies de ***M. haageana*** subsp. ***san-angelensis*** y ***O. denegrii*** a partir de brotes durante 200 días.

2. Segunda fase: Enraizamiento *in vitro* de ***M. haageana*** subsp. ***san-angelensis*** y ***O. denegrii***. Los brotes se enraizaron *in vitro* en medio nutritivo de Murashige y Skoog (MS) al 50% adicionado con ácido salicílico a tres concentraciones T1= testigo ácido salicílico 0.0 mgL⁻¹, T2 = ácido salicílico 0.5 mg L⁻¹ y T3 = ácido salicílico 1.0 mg L⁻¹. Se evaluó la longitud de raíces a los 60 días. Se logró promover la generación y desarrollo de raíces *in vitro* en los tratamientos T1, T2 y T3 y obtener así la cantidad suficiente de plántulas de ***M. haageana*** subsp. ***san-angelensis*** y ***O. denegrii***.

3. Tercera fase: Aclimatización: Se seleccionaron dos mezclas factibles de sustratos S1). 6% aserrín de coco + 94% perlita y S2). 51.11% aserrín de coco+ 28.97% perlita + 19.92%. Las plántulas fueron regadas con dos soluciones nutritivas: SN1). Fertilizante foliar Grofol[®] a concentración de 0.66% (1 meq L⁻¹) y SN2). MS al 50%. La altura, el diámetro de las plantas, la longitud de raíz el peso fresco, el peso seco y el porcentaje de sobrevivencia de las plantas fueron

evaluados a los 60 días. Se utilizó un diseño completamente al azar para *M. haageana* subsp. *san-angelensis* y *O. denegrii* con cuatro tratamientos obtenidos de la combinación de dos sustratos y dos soluciones: T1 = 6% coco + 94% perlita (S1) + Grofol[®] 0.66% (SN1), T2 = 6% coco + 94% perlita (S1) + MS al 50% (SN2), T3 = 51.11% aserrín de coco+ 28.97% perlita + 19.92% tezontle (S2) + Grofol[®] 0.66% (SN1) y T4= 51.11% aserrín de coco+ 28.97% perlita + 19.92% tezontle (S2) + MS al 50% (SN2) con 4 repeticiones por tratamiento obtenidos de la combinación de dos sustratos y dos soluciones.

Los cuatro tratamientos evaluados fueron adecuados para aclimatizar plántulas de *M. haageana* subsp. *san-angelensis*. El Tratamiento 1 fue el mejor en la aclimatización de *O. denegrii* ya que fue el único tratamiento que permitió alcanzar el 100% de sobrevivencia de las plántulas. Lo anterior implica que se acepta la hipótesis planteada.

Palabras claves: *M. haageana* subsp. *san-angelensis*, *O. denegrii*, Enraizamiento, In vitro, Aclimatización, Ácido salicílico, Sustratos.

I. INTRODUCCIÓN:

Las cactáceas son autóctonas del continente americano actualmente se encuentran distribuidas desde Canadá a una latitud de 56° N hasta el estrecho de Magallanes en América del Sur (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1978). La familia Cactaceae posee aproximadamente 2000 especies muchas de ellas son endémicas y están distribuidas el continente americano principalmente en regiones áridas y semiáridas (Bravo y Scheinvar, 1999).

México por sus peculiares condiciones de latitud, topografía y clima es el país que alberga posiblemente la mayor cantidad de cactáceas. (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1978). Posee 54 géneros y aproximadamente 850 especies, el 35 por ciento de ellas está en peligro debido a la extensión de urbanización, a la sobreexplotación de su medio natural, a coleccionistas ilegales y por su gran demanda en el comercio tanto a nivel nacional como internacional. Son muy buscadas por su aspecto exótico, elegante color y alta longevidad (Maiti *et al.*, 2003).

Existen alrededor de 300 especies de *Mammillaria* la mayoría son nativas de México, algunas otras son nativas del suroeste de EE.UU, el Caribe, América Central, o incluso un par en el norte de América del Sur. Se pueden encontrar desde el nivel del mar hasta grandes altitudes. Varían en tamaño desde miniatura de 2,5 cm de diámetro a tipo columnar de 30 cm de altura (Craig, 1945).

Mammillaria haageana subsp. ***san-angelensis*** está en la categoría en peligro de extinción (P) y ***Obregonia denegrii*** como especie amenazada según la Norma Oficial Mexicana (NOM-059-ECOL-2001).

La problemática que presentan ***Mammillaria haageana*** subsp. ***san-angelensis*** y ***Obregonia denegrii*** es su lento crecimiento y su alto grado de endemismo que traen como consecuencia la pérdida de germoplasma.

Una acción conveniente para salvaguardarlas es la utilización de cultivo de tejidos vegetales que es una poderosa herramienta que nos permite reproducir especies en mayor número y en menor tiempo y espacio.

1.1 OBJETIVO GENERAL:

- Lograr el enraizamiento *in vitro* de brotes y la aclimatización de plántulas de ***Mammillaria haageana*** subsp. ***san-angelensis*** y ***Obregonia denegrii***.

1.2 OBJETIVO ESPECIFICO:

- Probar diferentes concentraciones de ácido salicílico en el enraizamiento *in vitro* de brotes de ***Mammillaria haageana*** subsp. ***san-angelensis*** y ***Obregonia denegrii***.
- Evaluar las combinaciones de dos mezclas de sustratos y dos soluciones nutritivas en la aclimatización de plántulas de ***Mammillaria haageana*** subsp. ***san-angelensis*** y ***Obregonia denegrii***.

1.3 HIPOTESIS.

1.- Si el ácido salicílico es un promotor de raíces en brotes de diversas especies, entonces las concentraciones de este compuesto generarán diferentes longitudes de raíz en brotes de ***M. haageana*** subsp. ***san-angelensis*** y ***O. denegrii***.

2.- Si los sustratos tienen influencia en la absorción nutrimental, entonces la combinación óptima de ellos tendrá efectos en la aclimatización y porcentaje de sobrevivencia de plántulas de ***M. haageana*** subsp. ***san-angelensis*** y ***O. denegrii***.

II REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Clasificación taxonómica de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* (Bravo y Sánchez-Mejorada, 1991).

Orden: Caryophyllales. Ronquist

Familia: Cactaceae Lindl.

Subfamilia: Cereoideae K. Schum.

Tribu: Echinocactae F. Buxb.

Subtribu: Ferocactinae, Coryphantinae (en realidad). F. Buxb

Género: ***Mammillaria***. F. Buxb.

Especie: ***haageana***

Subespecie: ***san angelensis*** (Sánchez-Mej.) D. R. Hunt, 1977

Nombre común: Biznaga de San Ángel.

Sinónimo: *Mammillaria san-angelensis* Sánchez-Mej. 1981.

***Mammillaria delbata* A. Dietr., 1846.**

***Mammillaria dealbata* Briton & Rose 1923.**

***M. elegans* DC var. *delabata* K. Shum, ex R.T. Craig, 1945.**

2.2 Distribución geográfica

M. haageana subsp. *san-angelensis*: Distrito Federal, en la parte Sur del valle de México, localizada en el Pedregal de San Ángel.



Figura 2.1. Distribución de *M. haageana* subsp. *san-angelensis*.

2.3 Propagación

La multiplicación de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* es por semilla, esqueje o hijuelo.

La reproducción como en las demás plantas superiores tiene lugar por multiplicación vegetativa o reproducción sexual.

La multiplicación vegetativa produce nuevas yemas a partir de los tejidos meristemáticos las que después de separarse de la planta integran una nueva planta o un nuevo individuo. Este fenómeno se efectúa naturalmente en *Mammillaria* en donde las aréolas basales de los tallos forman nuevas plantas integrando clones hasta de cientos de individuos.

La reproducción vegetativa puede obtenerse mediante el cultivo de tejidos de cualquier tejido de la planta. El Dr. Rubluó en una investigación en el laboratorio del jardín botánico de la Universidad Autónoma de México obtuvo cientos de individuos de *Mammillaria elegans* especie en peligro de extinción a partir de fragmentos del tallo o de semillas germinadas en medio de cultivo Murashige y Skoog con el fin de propagarlas y reintroducirlas al campo (Bravo y Scheinvar, 1999).

Bravo y Scheinvar (1999) afirman que la reproducción sexual es importante por el aumento de variabilidad que resulta de la fusión del material hereditario de los cromosomas en la creación de un nuevo individuo.

2.4 Situación ecológica

Según la NOM-059-ECOL-2001; *M. haageana* subsp. *san-angelensis* está en la categoría en peligro de extinción (P).

2.5 Clasificación taxonómica de *O. denegrii* (Bravo y Sánchez- Mejorada, 1991).

Orden: Caryophyllales.

Familia: Cactaceae Lindl.

Subfamilia: Cereoideae K. Schum.

Tribu: Echinocactae. Schum. Emend. Buxb.

Subtribu: Thelocactinae. Buxb

Género: ***Obregonia***. Fric et Berg.

Especie: ***denegrii***. Fric, Zivot & Priode

Sinónimo: ***Ariocarpus denegrii*** (Fric) W.T. Marshall, 1946.

Strombocactus denegrii (Fric) G.D. Rowley, 1974.

2.6 Distribución geográfica

Fue encontrada por el señor A. V. Fric desde 1923, en San Vicente, cerca de la ciudad de Victoria, Tamaulipas (Bravo 1937).



Figura 2.2 Distribución de *O. denegrii*.

Bravo y Sánchez-Mejorada (1991) mencionan que *O. denegrii* es endémica del valle de Jaumave, ocupa una superficie aproximada de 6.5 Km² tiene densidades variables que dependen del impacto provocado por los lugareños y el número poblacional es superior a los 1, 500,000. *O. denegrii* es abundante pero por ser endémica de una zona sujeta a disturbio, se considera como especie vulnerable.

2.7 Propagación

La reproducción como en las demás plantas superiores tiene lugar por multiplicación vegetativa o reproducción sexual.

O. denegrii es propagada por semillas. Las plantas de semillero se injertan a veces en *Echinopsis* para aumentar su velocidad del crecimiento

Rowley (1978) citado por Farré (2001) menciona que la reproducción sexual generalmente en las cactáceas es en primavera, las flores maduran se abren y entran en antesis; están llenas de abundante jugo azucarado que producen los nectarios y por la intensa brillantez de los colores de las flores o por el olor que atrae a los insectos, chupamirtos, murciélagos y/o mariposas nocturnas para aprovechar el néctar y es así como a través de éstos se lleva acabo la polinización cruzada.

2.8 Situación ecológica:

O. denegrii esta catalogada como especie amenazada según la Norma Oficial Mexicana (NOM-059-ECOL-2001)

2.9 Cultivo de tejidos

La técnica de cultivos de tejidos consiste en cultivar órganos y células vegetales en medios nutritivos adecuados y en forma aséptica, ápices de raíz y tallos, primordios de hoja, primordios o partes inmaduras de flores, frutos inmaduros, órganos aislados, embriones maduros o inmaduros, segmentos de órganos de tallo y hoja y algunas veces ovarios, óvulos, anteras y polen. Permite generar

una gran cantidad de individuos con el mismo genotipo del individuo parental, más vigorosos y en un período de tiempo muy corto lo que resulta ideal para alcanzar una producción de plantas de alta calidad (Street, 1977; Harmatmann y Kester, 1999; Boutherin y Bron, 2002; Escobedo, 2000).

El cultivo *in vitro* es posible gracias a una propiedad de las células vegetales denominada totipotencia celular según la cual toda célula viviente que posea un núcleo es capaz de reproducir fielmente la planta entera de la que procede independientemente de su especialización en ese momento. Cada célula posee por lo tanto la totalidad del patrimonio genético de la planta (Boutherin y Bron 2002).

2.10 Etapas de Micropropagación

Harmatmann y Kester (1999) menciona que la micropropagación tiene usos significativos en la propagación vegetativa de especies y cultivares de importancia.

En la micropropagación hay cuatro fases diferentes:

Fase I: Preparación del cultivo aséptico

Fase II: Reproducción

Fase III. Enraizamiento y desarrollo de la plántula

Fase IV: Aclimatización

Fase I: Se trata de la etapa básica de la operación. Consiste en preparar un cultivo *in vitro* para la planta que se desea reproducir.

Fase II: Micropropagación. Tiene como objetivo conseguir el número de plantas deseadas de acuerdo con el material obtenido en la fase I, con la micropropagación de plántulas o microhojas se realiza con una división para el conjunto de yemas o bien una fragmentación del protocormo para las orquídeas. Estos fragmentos se disponen en cultivos para volver a ser divididos

posteriormente tantas veces como sea necesario para obtener el número de plantas deseado.

Fase III: Enraizamiento. Se procede a una individualización o a una última micropropagación. Una vez obtenido el número de plantas deseadas el trasplante se realiza en un tubo o en frascos, con un medio diferente con el fin de provocar el crecimiento y el enraizamiento. El medio utilizado difiere del anterior en cuanto al equilibrio de los reguladores de crecimiento, auxinas y citocininas.

Esta fase no es obligatoria. En algunas especies el enraizamiento *in vitro* no es necesario. En este caso la aclimatización se realiza directamente al final de la fase II. Puede almacenarse en cámara de frío de 4°C a 5°C, 1000 lux, régimen día/noche 12-12 y conservar de este modo con el fin de reducir el coste de la operación.

Fase IV: Aclimatización. La calidad final de una planta *in vitro* depende en parte de su aclimatización. Es necesario que este proceso se lleve a cabo en las mejores condiciones posibles.

Esta etapa es muy delicada las raíces nacidas *in vitro* son extremadamente frágiles hasta el punto de que en contacto con otro sustrato puede morir por lo que es necesario esperar la formación y el crecimiento de nuevas raíces para que la planta pueda alimentarse. Las jóvenes plántulas presentan un comportamiento semejante al de los esquejes durante esta fase y requieren los mismos cuidados: higrometría elevada, temperatura alrededor de 20°C, posible necesidad de sombra y un control concienzudo de las posibles enfermedades. Las plantas se adaptan progresivamente al medio del invernadero tras esta fase delicada (que dura de dos a tres semanas).

La planta toma casi toda su energía del medio de cultivo cuando todavía se encuentra en la fase de aclimatización. La buena calidad del sistema radicular es especialmente importante en el caso de los árboles.

El sustrato utilizado debe ser sano y ofrecer una buena capacidad de drenaje. Se debe controlar la temperatura del ambiente y la del sustrato para evitar que exista una diferencia importante entre ambas. Resulta importante manipular la luminosidad para eliminar el riesgo de quemaduras. La protección sanitaria preventiva también es imprescindible y el empleo de CO_2 actualmente es un proceso de estudio para ofrecer buenos resultados entre ellos un mejor crecimiento de las plántulas. Debemos recordar finalmente que el control de todos los factores del medio es indispensable. La ausencia del control de uno de estos factores podría echar a perder todos los esfuerzos realizados para dominar los demás (Hurtado y Merino, 2000; Boutherin y Bron, 2002; Barba *et al.*, 2001).

2.11 Micropropagación de cactáceas

Martínez y Rubluó (1989) propagaron *in vitro* ***M. haageana*** subsp. ***san-angelensis*** especie en peligro de extinción. Partieron de semillas que colocaron en medio Murashige y Skoog libre de hormonas con un fotoperiodo de 16 hrs luz, incubadas a 27°C. Las semillas germinaron y en seis meses se desarrollaron las plántulas que fueron utilizadas como fuente de explante. Los brotes se fragmentaron y se establecieron en un medio MS con diferentes concentraciones de BA y NAA. Los explantes laterales en medio con ANA produjeron más brotes y formaron raíces.

Clayton *et al.*, (1990) realizaron micropropagación *in vitro* de varias especies de cactáceas con diferentes medios basales para determinar cual es el mejor ellos mencionan que once especies de cactáceas generaron espontáneamente raíces en un medio sin reguladores.

Malda (1997) analizó el crecimiento *in vitro* de dos cactáceas amenazadas y encontró que las condiciones ambientales artificiales pueden modificar el proceso de fijación de CO_2 característico de las cactáceas (CAM) y en consecuencia alterar su ritmo de crecimiento. Las plántulas de ***O. denegrii*** Fric y ***Coryphantha minima*** Bair derivadas del cultivo de tejidos mostraron un

notorio aumento en el índice de crecimiento observando ejemplares mas grandes en comparación con plantas cultivadas *ex vitro*. Los reguladores de crecimiento incorporados al medio del cultivo parecen tener una fuerte influencia en este fenómeno. Otros factores que influyen son la alta humedad relativa dentro de los frascos de cultivo y el azúcar agregado en el medio de cultivo (fuente externa de carbono). El análisis de la actividad fotosintética demostró un incremento neto en la fijación de CO₂ al parecer estimulado por la fuente externa de carbono. El crecimiento acelerado también se ve influenciado por la fijación continua (día/noche) de CO₂ observada en los cactus cultivados *in vitro*. Esto puede ser consecuencia de alteraciones en el funcionamiento estomático debido a los altos valores de humedad que de una manera indirecta se hicieron evidentes con los elevados índices de transpiración detectados para estas plantas. Un análisis del contenido de ceras epicuticulares reveló que bajo las condiciones *in vitro* la producción se ve limitada, aumentando en consecuencia la transpiración y posiblemente la absorción de CO₂ en las plantas. Se desarrolla el patrón normal de actividad fotosintética CAM. Una vez que los cactus se transfieren a condiciones *ex vitro*.

Choreño *et al.*, (2002) propagaron *in vitro* ***Cephalocereus senilis*** Haworth Pfeiffer a partir de aréolas. Estas fueron sembradas en medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) complementado con ácido naftalenacético (ANA) solo y en combinación con 6-benzyladenina (BA) o cinetina (K) en concentraciones de 0.0; 0.3; 1 y 3.0 mg L⁻¹. Después de 21 días la activación de aréolas se inició en 0.3 ANA + 3.0 BA mg L⁻¹. A los 61 días se subcultivaron para su multiplicación durante 40 días. Posteriormente los brotes fueron transferidos a medio sin reguladores, donde espontáneamente formaron raíz a los 30 días de la incubación.

Sánchez y Pérez (2007) describen el desarrollo de un protocolo para la propagación *in vitro* de ***Browningia candelaris*** (Cactaceae) logró la formación de brotes múltiples a partir de areolas de plántulas germinadas en medio basal de Murashige y Skoog a pH 5.7 con 30 g.L⁻¹ de sacarosa, 10 g.L⁻¹ de agar y

meta-Topolina (mT) o 6-bencilaminopurina (BA) en concentraciones de 0.5, 1.0 y 1.5 mg.L-1. La mayor producción de brotes se alcanzó en medio con 0.5 mg.L-1 de mT, donde se generó un promedio de 20.4 brotes por explante. El mejor tratamiento con BA fue con 0.5 mg.L-1, donde se generó un promedio de 8.4 brotes por explante. Los brotes generados con mT enraizaron en medio basal al 50% con una eficiencia del 68%. En las mismas condiciones, los brotes generados con BA enraizaron con una eficiencia menor (52%). La sobrevivencia en suelo de las plantas generadas *in vitro* fue del 86%.

2.12 Sustancias hormonales

Dentro de los reguladores naturales tenemos algunos menos conocidos como:

Acido salicílico: (ácido 2-hidroxibenzoico), el ingrediente activo de la aspirina (ácido acetilsalicílico), es una hormona vegetal importante para algunas respuestas fisiológicas conocidas. El ácido salicílico es uno de los causantes de la producción de calor y aromas en el ápice de la inflorescencia de los lirios **Arum**. Es producido en los primordios de las flores estaminadas y traslocado al ápice promueve ahí la respiración resistente al cianuro que lleva a la producción de calor y a la volatilización de los compuestos que atraen a los insectos polinizadores (Meeuse y Raskin, 1988, citado por Salisbury y Ross, 2000).

Otro de los efectos del ácido salicílico es aumentar la resistencia a determinados patógenos de plantas, incluyendo el virus del mosaico del tabaco, el virus de la necrosis del tabaco y el hongo patógeno **Collectotrichum lagenarium**. En los trabajos mencionados la inoculación de hoja con el virus o el hongo patógeno provocó un aumento sustancial de la concentración del ácido salicílico en el tejido (o en los tubos cribosos del floema). Este compuesto además origina la producción de una o más proteínas relacionadas con la patogénesis (RP) que aumenta la resistencia a las enfermedades de las hojas infectadas y de las adyacentes. El ácido salicílico cumple claramente los criterios para ser una hormona vegetal (Salisbury y Ross, 2000; Jankiewicz, 2003).

Tanto los monofenoles como los polifenoles estimulan el enraizamiento de esquejes por lo que a ciertos compuestos de este grupo se les denomina “cofactores de auxinas”. Se puede utilizar compuestos fenólicos a muy bajas concentraciones ($1-10 \text{ mg L}^{-1}$) con el método de soluciones diluidas de 20- 24 h de tratamiento para el enraizamiento de esquejes. Los compuestos fenólicos a concentraciones altas no inhiben la formación de raíces pero tampoco la estimulan. Los compuestos más utilizados para enraizar esquejes son: ácido salicílico, rutin, catecol, pirogalol y para el enraizamiento en cultivo de tejidos se usa el floriglucinol. El ácido salicílico también retrasa el envejecimiento de las hojas. Estos compuestos actúan solamente en presencia de auxinas (Jankiewicz, 2003).

Bojórquez y Gutiérrez (2000) mencionan el efecto de ácido salicílico (AS) en plantas de tomate (*Physalis ixocarpa* L.) en tres etapas de aplicación: crecimiento vegetativo, floración y primer fruto (fecundación), con tres dosis de ácido salicílico: 10^{-4} , 10^{-6} y 10^{-8} . El ácido salicílico con la concentración de 10^{-6} M mostró incremento del 100% con respecto al testigo en el número de frutos totales y en número de frutos cortados. El peso de los frutos incremento más del 50% en 10^{-4} M. El ácido salicílico a concentración de 10^{-4} M aumentó hasta un 22% el tamaño polar y ecuatorial del fruto, la etapa de fructificación fue la más adecuada para su aplicación. El ácido salicílico 10^{-6} M disminuyó la pérdida de peso de los frutos hasta en 76.31%. El peso seco aumentó hasta un 128.13% en la etapa de crecimiento vegetativo con 10^{-4} M. El ácido salicílico tuvo efectos notorios en las siguientes variables evaluadas: altura de la planta, peso volumétrico de la raíz y longitud de la raíz. El ácido salicílico a 10^{-6} afectó positivamente el crecimiento de la raíz en cada uno de las hortalizas estudiadas recomendándose su uso en otros cultivos.

Isiordia *et al.*, (2000) realizaron estudios del efecto del ácido salicílico en la estimulación de raíces y parte aérea de hortalizas (tomate, chile, cebolla, tomatillo y papaya) en hidroponía bajo invernadero. Se sembró cada una de las hortalizas en botellas de plástico con capacidad de dos litros con ácido salicílico

(AS), 10^{-4} , 10^{-6} , 10^{-8} M y un testigo. Se aplicó una solución nutritiva completa con bombas para la aireación del sistema. Se colocaron 10 plántulas en cada botella. Las plantas se manejaron según sus requerimientos en cuanto a sanidad, balance hídrico y nutrimental y sin problemas de ambiente. Las variables evaluadas por 7 días a partir de 24 horas de aplicación fueron: área foliar (medida con un integrador de área foliar marcada CID, modelo CL-202), peso aéreo, longitud y peso seco de raíces. La respuesta fue altamente significativa para el área foliar. Tomate con la dosis 10^{-4} M reportó casi el triple (278%) al igual que el chile con un 118%, en papaya la dosis de 10^{-8} M incrementó en un 105% dicha variable indicando que el ácido salicílico (AS) estimuló la producción de auxinas y por ende mayor crecimiento aéreo. La mejor respuesta en tomatillo se obtuvo con la concentración 10^{-6} M con un aumento de alrededor de 80%, cebolla no mostró respuesta favorable. Las tendencias de peso seco de hojas se mantuvieron similares a las del área foliar siendo en tomate donde se reportaron los mejores aumentos. La longitud de raíz se incrementó significativamente en papaya, cebolla y tomatillo en dosis de 10^{-8} M, con 172.66 y 88% respectivamente en tomate y chile se aumentó la dosis de 10^{-4} M, con 115 y 39% respectivamente lo que indicó que AS en sus hidroxilos en posición ortho y para regular el efecto de mayor estímulo de la raíz a la vez que regula de forma modulada la producción de auxinas que en parte son responsables del crecimiento de las raíces en las plantas. La tendencia se mantiene en el caso del peso seco sobre todo en tomate y cebolla que se encontró el triple y el doble de peso seco con la dosis de AS 10^{-4} y 10^{-8} molar respectivamente. Concluyen que el ácido salicílico estimuló de manera significativamente el crecimiento aéreo de las plántulas de tomate, papaya, tomatillo y chile y afecta positivamente el crecimiento de raíz en cada una de la hortalizas estudiadas en sus diferentes dosis.

Enríquez *et al.*, (2001) investigó los efectos de los ácidos acetilsalicílico e indolbutírico en el enraizamiento *in vitro* y rendimiento de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) variedad Daniela. Obtuvo sus brotes a partir de segmentos de tejido foliar y los transfirió a los medios de cultivo: a) MS0

(medio básico) y sin reguladores de crecimiento; b) el MSAS es el medio MS0 con ácido acetilsalicílico (10^{-4} M) y c) MSIB medio MS0 con ácido indolbutírico (4.92×10^{-7} M). Los cultivos fueron incubados durante doce días. El tamaño (mm) y número de hojas de la plántula se determinó al inicio y cada seis días se contó el número de brotes que formaron raíz, número de nuevas raíces adventicias en cada brote, longitud de raíz (mm), crecimiento de brote (mm) y formación de nuevas hojas. En aclimatización usó mezcla 1:1 de suelo con perlita y aplicó riegos por aspersión foliar cada tres horas y un riego diario al sustrato con 25 ml de solución nutritiva de Steiner (1984), ajustada a un pH de 5.6 y 6.0 MPa de potencial osmótico. La etapa de aclimatización tuvo un periodo de 35 días. Al iniciar y concluir el período de adaptación se cuantificó: altura de planta y número de hojas. La mejor respuesta de enraizamiento in vitro se observó en los brotes establecidos en medio sin reguladores de crecimiento. Interpretada como resultado de la presencia endógena en los tejidos del tallo con altos niveles de auxinas. El AAS provocó retardos en el enraizamiento y el desarrollo de las partes aéreas de la planta. A pesar de cierto grado de inhibición estas se recuperaron posteriormente mediante la acumulación de materia seca.

En aclimatización se transfirieron las plantas de los tratamientos de MS0 y MSAS y se logró el desarrollo vegetativo y rendimientos similares a los de plantas originadas de semilla. No hubo entre ellas diferencias estadísticamente significativas.

Santiago (2001) investigó el efecto que tiene el ácido salicílico aplicado al sustrato de crecimiento para la adaptación al estrés en plantas de cebolla obteniendo como resultado que las plantas que fueron tratadas con AS 1×10^{-4} M tuvieron un peso estadísticamente mayor con relación al testigo y un aumento significativo en cuanto a la tolerancia a estrés hídrico.

Mora-Herrera y López-Delgado (2004) investigaron la tolerancia a baja temperatura inducida por ácido salicílico y peróxido de hidrógeno en microplantas de papa obteniendo que las microplantas cultivadas en presencia

de AS mostraron inhibición en el crecimiento en el tallo y raíces, inhibición que en la concentración de 0.1mM fue hasta de 80% con respecto a los testigos.

2.13 Enraizamiento

Pierik (1990), menciona que las raíces que se han originado *in vitro* son vulnerables y no funcionan de forma adecuada *in vivo* (no tienen o tiene pocos pelos radicales) por lo que mueren rápidamente debiendo ser sustituidas por nuevas raíces subterráneas. El desarrollo de pelos radicales *in vitro* puede a veces ser estimulado al desarrollar las raíces en medio líquido. Un desarrollo pobre del sistema radical hace que el crecimiento *in vivo* se haga más difícil especialmente cuando hay una elevada transpiración. Es de vital importancia que las plantas *in vitro* pierdan la menor cantidad de agua posible.

Al considerar los problemas asociados con el sistema radical no funcional se debe tener en cuenta lo siguiente:

- Permitir al menos que los primordios radicales se desarrollen *in vitro* ya que estos se pueden convertir en auténticas raíces subterráneas *in vivo*.
- Cuando sea posible facilitar las condiciones que permiten el desarrollo de las raíces *in vitro* (por ejemplo en medios líquidos) que luego serán funcionales en el suelo (Pierik, 1990).

Debergh 1981, menciona que bañar los vástagos en una solución de auxinas antes de que vaya a desarrollarse el enraizamiento facilita la formación de raíces en algunas especies.

2.14 Aclimatización:

Una vez obtenidas las plántulas *in vitro*, la siguiente etapa es adaptarlas a las condiciones ambientales en las que habrá de crecer y desarrollarse. La transferencia de plántulas desde condiciones asépticas *in vitro* a condiciones ambientales normales tiene que efectuarse cuidadosamente o pueden perderse cantidades de plantas en este paso considerado como crítico. Las causas de

muerte generalmente son por deshidratación, infección por microorganismos y mala nutrición.

La deshidratación se debe a que las plántulas de muchas especies poseen mucho menos cera epicuticular que las que se desarrollan bajo condiciones ambientales naturales. La carencia de cera epicuticular da como resultado que cuando las plántulas desarrollada *in vitro* se trasplanta a condiciones ambientales pierde más rápidamente agua que las plantas normales. Otra causa de la deshidratación es debida al control ineficiente de la función estomática. La carencia de raíces capaces de funcionar inmediatamente en el sustrato es otra razón que provoca su marchitamiento y muerte por falta de agua (Barba *et al.*, 2001; Pierik, 1990).

Un tejido vegetal cultivado *in vitro* mientras esta creciendo en un medio nutritivo no fotosintetiza ya que no lo necesita porque el medio le proporciona la sacarosa que necesita por lo que la fotosíntesis es innecesaria. Es fisiológicamente heterótrofo (requiere alimentarse de productos elaborados para su existencia) y no autotrófico que son autosuficiente en su nutrición como lo hacen todas las plantas. El paso crítico del trasplante es la inducción del cambio de la condición fisiológica de heterótrofa a autótrofa. El cambio de la autotrofia se da en las primeras semanas después de la extracción del frasco de cultivo.

La calidad final de una planta *in vitro*, depende en parte de su aclimatación. Es necesario que este paso se lleve acabo en las mejores condiciones posibles. Esta etapa es muy delicada: las raíces nacidas *in vitro* son extremadamente frágiles (Harmann y Kester, 1999; Barba *et al.*, 2001).

Vílchez *et al.*, (2007), mencionan que la aclimatación de vitroplantas (plantas cultivadas *in vitro*) consiste en el paso de las condiciones *in vitro* a las condiciones donde las mismas se desarrollarán para su cultivo con el objetivo de que superen las dificultades ocasionadas cuando son removidas del ambiente *in vitro* y de esa manera prepararlas para su trasplante definitivo. Este proceso es crítico pues las vitroplantas pasan de un ambiente de baja

transpiración a otro que exige una mayor demanda hídrica que eventualmente puede ocasionar estrés hídrico.

En esta etapa las plantas cultivadas *in vitro* pasan de un estado heterótrofo a un estado autótrofo con diferentes niveles de nutrientes y finalmente de un ambiente aséptico a uno donde puede estar expuesta al ataque de microorganismos saprofitos y eventualmente fitopatógenos. La aclimatización implica un retorno gradual de las plantas a sus características morfológicas normales después del cultivo *in vitro*. La eficiencia del proceso es trascendental para la propagación comercial pues del resultado de ésta dependerá en gran medida la eficiencia total del proceso y la calidad final de las plantas (Barba *et al.*, 2001; Pierik, 1990).

2.15 Sustratos

El sustrato es el soporte físico de la planta, además desempeña un papel esencial en su alimentación: un suelo equilibrado es uno de los factores fundamentales para su supervivencia, un suelo que drene bien es indispensable para las plantas crasas (Farré, 2001).

Los sustratos ejercen una influencia significativa en la arquitectura del sistema radical de las plantas y en las asociaciones biológicas de éste con el suelo influenciando estado nutricional y la traslocación de agua en el sistema suelo-planta-atmósfera. Uno de los requisitos fundamentales que debe cumplir el sustrato para su utilización es la sanidad. Pueden contaminarse y provocar serios daños a las plantas durante la aclimatización cuando estos no se elaboran, almacenan o manejan correctamente. Son preferidos por esta razón como componentes para su elaboración materiales inertes o aquellos en las cuales el proceso de obtención garantice la mayor desinfección posible (Vílchez *et al.*, 2007).

2.15.1 Tipos de sustratos:

Handreck y Black (2002) describen un número considerable de materiales usados en cultivos ornamentales y jardinería. Citan entre otros a las cortezas de pino y de eucalipto, restos de las industrias de la caña de azúcar, del arroz, de champiñón, aserrín de coco, turbas, vermicomposta, arena, lignito, perlita, grava, material volcánico, lana de roca, plásticos, etc.

2.15.1.1 Fibra de coco

Es un residuo orgánico agroindustrial de origen tropical. El sustrato conocido como “fibra de coco” se obtiene como residuo de la industria textil de las fibras del mesocarpio de los frutos del cocotero (*cocos nucifera*).

Algunas características de este producto son: buen equilibrio entre retención de agua y capacidad de aireación. Evita las enfermedades fungosas en las raíces como consecuencia del exceso de humedad. El pH de este producto es estable y controlado. Oscila entre 5,5 y 6,5, rango que resulta apropiado para la mayoría de las plantas.

Capacidad de retención del agua. En el cultivo intensivo este valor resulta de interés frente a sustratos como la perlita o la lana de roca cuya escasa retención hídrica puede comprometer seriamente el cultivo en caso de fallo del sistema de riego.

Buena mojabilidad. El sustrato de coco al contrario que las turbas absorbe muy rápidamente el agua cuando está seco.

Capacidad de intercambio catiónico. Es capaz de retener nutrientes y liberarlos progresivamente, evitando las pérdidas por lixiviación. Ejerce un poder amortiguador contra los errores de abonado. Producto ecológico y renovable. Su extracción y posterior eliminación no representa ningún tipo de impacto medioambiental. Relación calidad/precio. Muy competitivo frente a otros sustratos (Burés, 1997).

Santiago (2008), menciona que en el cultivo de pimienta, el sustrato de fibra de coco ha reemplazado al de lana de roca y al tezontle gracias a la aireación que permite un mejor desarrollo de las raíces con un ahorro en el consumo de agua y nutrientes. En el pasado el pimienta se cultivaba en sustratos de gran porosidad tales como arena y tezontle ya que se considera a este cultivo como resistente al estrés hídrico. Productores de pimientos han observado que al tener una porosidad adecuada (50 al 63% de aire) el sustrato de fibra de coco permite un mejor desarrollo de las raíces pequeñas que favorecen el desarrollo del cultivo con un mayor rendimiento.

Desventajas:

La única precaución que hay que tener es comprobar el contenido en sal (cloruro sódico) especialmente si se compra fibra de coco en grandes cantidades de áreas costeras próximas al océano. Con un lavado esta desventaja se puede eliminar (Castellanos, 2004).

2.15.1.2 Perlita

Es básicamente un silicato aluminoso color blanco grisáceo de origen volcánico y de composición variable que depende de características de la roca volcánica original (Bunt, 1988 citado por Cadahia, 2005; Harmann y Kester, 1999).

Propiedades y características

La perlita conforma una estructura celular cerrada. Su superficie es rugosa y contiene numerosas indentaciones lo que le proporciona una gran área superficial y le permite retener agua en su superficie de 3-4 veces su peso de agua. La alta temperatura de procesamiento proporciona un material estéril. 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 (Hartmann y Kester, 1999).

Ventajas:

La principal ventaja del cultivo en perlita en comparación con otros sistemas de cultivo sin suelo es la facilidad y sencillez de mantener un perfil de humedad casi constante a lo largo de la zona radicular con independencia del momento del día, las condiciones climáticas o el estado de desarrollo de la planta (Marfa *et al.*, 1993; Martínez *et al.*, 1993 mencionados por Abad *et al.*, 2005).

Es muy útil para aumentar la aireación de las mezclas. En combinación con el musgo turboso es un medio muy popular para enraizar (Hartmann y Kester, 1999). No contiene microorganismos siendo completamente estéril por su proceso de obtención (Burés, 1997).

Desventajas:

Es un material frágil que se rompe con facilidad la degradación de su estructura constituye un inconveniente cuando se utiliza en cultivos de ciclo largo. Es propenso a que desarrollen algas (por ser de color blanco) en la superficie de los contenedores, lo que condiciona a veces su aceptación (Burés, 1997).

2.15.1.3 Tezontle.

El tezontle es una roca de origen volcánico puede ser de color rojo o negro. Ofrece buen drenaje, casi nulo aporte de nutrientes y un pH ligeramente neutro.

Las desventajas encontradas del tezontle son dos:

1. El peso. Esta desventaja puede corregirse utilizando pedacera o cacahuates de poliestireno en la base de la maceta o revuelta con la piedra.
2. Acumulación de sales. Esta situación se presenta cuando no enjuagamos las macetas. Las lluvias del verano generalmente son suficientes para remediar el problema en su época, pero durante el invierno y primavera no llueve y por lo tanto hay que hacer los enjuagues. Hay que regar varias veces sobre un par de horas utilizando una buena cantidad de agua en cada riego para disolver las

sales y que puedan enjuagarse. Piensa en la manera que cae el agua del cielo (Cid, 2006).

Morales *et al.*, (1997) evaluaron el efecto de sustratos y condiciones nutricionales en la producción de cactáceas con miras a establecer las mejores condiciones de crecimiento para su posterior utilización en cultivo masivo. Evaluó plántulas de ***Hylocereus undatus*** germinadas en condiciones óptimas de luz y temperatura y cultivadas bajo diferentes regímenes nutricionales agua, solución Hoagland al 50% de su potencia y al 100% de su potencial. El cultivo se hizo sobre tres soportes de (agrolita, tezontle y arena) originalmente libres de nutrientes que poseían misma textura (malla 40), los cuales fueron mantenidos a capacidad de campo substituyendo diariamente el volumen del líquido perdido por evaporación. Los resultados mostraron que la agrolita en combinación con la adición de nutrientes en baja concentración favorecieron tanto el crecimiento como la supervivencia de plántulas de ***Hylocereus undatus***.

Martínez (2007) estimó el consumo de agua en el cultivo de Tomate (***Lycopersicon esculentum*** Mill.) en dos sistemas de producción: sustrato y suelo bajo condiciones de invernadero. Los sustratos utilizados fueron fibra de coco y suelo, el mejor tratamiento fue el suelo con un 0.65 L/planta/ día y fibra de coco con un consumo de 1.35 L/planta/ día.

Requejo (2008) investigó el acondicionamiento nutricional de plántulas y optimización de sustratos en tomate (***Lycopersicon esculentum***) los sustratos se definieron a través de programación lineal y no lineal donde obtuvo como resultado que el mayor rendimiento se logró con el empleo de aserrín de coco, el tratamiento constituido por 94% de perlita y 6% de aserrín de coco reportó las mayores eficiencias de uso de solución nutritiva en gramos de fruto por litro y la mayor relación beneficio/costo fue registrada por 100% de perlita.

2.16 Fertirriego:

El riego localizado presenta numerosas ventajas respecto al sistema de riego tradicional en relación a la utilización de aguas salinas y el ahorro del agua. Se ha demostrado sin embargo en los últimos años que las mayores posibilidades de este sistema de riego se centran en su utilización como vehículo de una dosificación racional de fertilizantes. Ofrece la posibilidad de realizar una fertilización día a día en función del proceso fotosintético y exactamente a la medida del cultivo, sustrato y agua de riego determinado y para condiciones ambientales definidas.

La dosificación de fertilizantes distribuidas durante todos los días del ciclo de cultivo permite hacer frente a los posibles problemas de contaminación que pueden originarse por un exceso transitorio de fertilizantes en el suelo o sustratos. El sistema de fertirrigación es hoy por hoy el método mas racional para realizar una fertilización optimizada y respetando el medio ambiente (Cadahia, 2005).

2.16.1 Ventajas y Desventajas del fertirriego:

- ✓ Dosificación racional de fertilizantes
- ✓ Ahorro considerable de agua
- ✓ Utilización de aguas de riego de baja calidad
- ✓ Nutrición optimizada del cultivo y por lo tanto aumento de rendimientos y calidad de los frutos.
- ✓ Control de la contaminación
- ✓ Mayor eficacia y rentabilidad de los fertilizantes
- ✓ Alternativas en la utilización de diversos tipos de fertilizantes: simples complejos cristalinos y disoluciones concentradas.
- ✓ Fabricación a la carta de fertilizantes concentrados adaptados a un cultivo, suelo o sustrato, agua de riego y condiciones climáticas durante todos y cada uno de los días del ciclo del cultivo.
- ✓ Automatización de la fertilización (Weaver, 1996).

Desventajas:

- ✓ Coste inicial de infraestructura
- ✓ Obturación de goteros
- ✓ Manejo de personal especializado (Weaver, 1996).

2.17 Soluciones nutritivas:

Los elementos nutritivos son los que determinan el desarrollo del vegetal, la coloración del follaje o del cuerpo, la calidad de las espinas y la calidad y cantidad de flores. Las plantas cultivadas en macetas requieren aportes periódicos de fertilizantes líquidos o sólidos, pero especiales para cactus y plantas crasas (Farré, 2001).

Grofol: GROFOL® 20-30-10 es un fertilizante foliar de fórmula completa recomendado para complementar y corregir deficiencias nutricionales en diferentes cultivos.

GROFOL® 20-30-10 contiene nitrógeno, fósforo y potasio, además de elementos secundarios y menores en forma de quelatos, los que conjuntamente con sus agentes penetrantes, ingredientes de compatibilidad y fitohormonas hacen de GROFOL® 20-30-10 un fertilizante foliar de máxima asimilación y rápida penetración al interior de las plantas (Grupo Bioquímico Mexicano, S.A. de C.V. 2009).

MS 50%:

Se utilizó el medio MS al 50% como otra solución nutritiva para regar las plantas Espitia (2005) aclimató *Turbinicarpus valdezianus* propagada *in vitro*. Utilizó para regar tres soluciones nutritivas, dos correspondieron a soluciones recomendadas por Sonneveld (1994) y la tercera al medio Murashige y Skoog (MS al 50%). Las plantas regadas con MS al 50% constituyeron el mejor tratamiento para las variables altura de planta y diámetro de planta.

Castañeda (2004) manejó en aclimatización de *Mammillaria plumosa* tres soluciones para el riego de *Anthurium* y *Dianthus* obtuvo como resultado que MS al 50% fue el mejor tratamiento con un 100% de sobrevivencia en plantas con raíz y diámetro inicial de 1cm.

Díaz (2002) analizó la factibilidad económica y biológica del Grofol[®] en cultivo de tomate obteniendo como resultado que al aplicar 4.5 L ha de Grofol[®] aumenta el número de flores, número de frutos y rendimiento por lo que se obtienen excelentes ganancias.

III MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo se llevó acabo en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos del Departamento de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro localizado en Buenavista Saltillo, Coahuila, México

El trabajo se dividió en tres fases:

- 1.- Propagación *in vitro* de ***M. haageana*** subsp. ***san-angelensis*** y ***O. denegrii***
- 2.- Enraizamiento *in vitro* de ***M. haageana*** subsp. ***san-angelensis*** y ***O. denegrii***.
- 3.- Aclimatización de vitroplantas de ***M. haageana*** subsp. ***san-angelensis*** y ***O. denegrii***.

3.1. Primera fase: Propagación *in vitro* de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* y *O. denegrii*.

La primera etapa consistió en propagar las especies de ***M. haageana*** subsp. ***san-angelensis*** y ***O. denegrii*** a partir de brotes de acuerdo a resultados de investigaciones anteriores. Se utilizó el medio propuesto por Murashige y Skoog (1962) cuadro A.1 del apéndice.

3.1.1 Preparación de soluciones madre:

En la última columna del cuadro A.1 del apéndice se calcularon las cantidades de cada uno de los componentes del medio necesarias para preparar 10 litros de medio nutritivo MS, concentración a la que se prepararon las soluciones madre (10 x). Los componentes para preparar la solución de macronutrientes 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 30 ml de solución madre. El mismo procedimiento se utilizó para preparar las soluciones de micronutrientes, fierro y vitaminas y se aforaron a 100 ml de agua

desionizada, tomándose para preparar cada litro 10 ml. Las soluciones madre se guardaron en el refrigerador, de donde se extrajeron cada vez que se preparó medio.

3.1.2 Preparación del medio nutritivo

El procedimiento para la preparación del medio nutritivo fue el siguiente:

1. En un matraz se colocaron 500 ml de agua desionizada, enseguida se añadió el volumen correcto de cada una de las soluciones madre de macro, microelementos, fierro, vitaminas, reguladores de crecimiento y 30 g L⁻¹ de sacarosa. La mezcla se aforó a un litro y se mantuvo en una parrilla de agitación por cinco minutos.
2. El pH se midió con ayuda de un potenciómetro y se ajustó a un valor de 5.7 utilizando soluciones de NaOH (0.5 y 1.0 N) y HCl (0.1 y 1.0 N).
3. Se agregaron 9 g L⁻¹ de agar que se diluyeron por medio de agitación continua con calor hasta que el medio se tornó transparente.
4. El medio se distribuyó en frascos de gerber (20 ml/frasco de medio) que se esterilizaron en la autoclave durante 15-20 minutos a una presión de 1 Kg cm⁻² y a 120 °C. Los frascos finalmente se sellaron.

Los reguladores de crecimiento agregados al medio nutritivo para la propagación de *O. denegrii* fueron 1 mg L⁻¹ de BAP (Bencilaminopurina) + 0.5 mg L⁻¹ de ANA (ácido naftalenácetico) y para *M. haageana* subsp. *san-angelensis* fue 1 mg L⁻¹ de Paclobutrazol y 1 mg L⁻¹ Kinetina.

La propagación de ambas especies se realizó durante 200 días (tiempo en el que se trasvasó *O. dengrii* cada 15 días y *M. haageana* subsp. *san-angelensis* cada mes) para contar con suficiente material para llevar acabo la siguiente etapa de enraizamiento *in vitro*

3.2 Segunda fase: Enraizamiento in vitro de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* y *O. denegrii*.

Los brotes generados en la fase de propagación se enraizaron *in vitro* colocándolos en frascos magenta con 20 ml de medio nutritivo de Murashige y Skoog (MS) al 50% de su concentración adicionado con 250 mg L⁻¹ de myo – inositol, 1 mg L⁻¹ de piridoxina – HCl, 1 mg L⁻¹ de tiamina – HCl , 9 g L⁻¹ de agar . El pH del medio se ajustó a 5.5 y se esterilizó a 121°C durante 20 minutos. Los frascos se colocaron en una cámara de crecimiento donde se mantuvieron bajo condiciones ambientales controladas: fotoperíodo de 16 horas luz, intensidad lumínica de 2000 lux y temperatura de 26°C.

El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar con 4 repeticiones por tratamiento T1= testigo ácido salicílico 0.0 mgL⁻¹, T2 = ácido salicílico 0.5 mg L⁻¹ y T3 = ácido salicílico 1.0 mg L⁻¹. Se colocaron 4 brotes por frasco considerando cada frasco como una repetición. Se evaluó la longitud de raíces a los 60 días.

3.3 Tercera fase.- Aclimatización de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* y *O. denegrii*

La aclimatización consistió en sacar las vitroplantas de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* y *O. denegrii* del cuarto de incubación y transferirlas *ex vitro*.

Esta fase se llevó acabo de la siguiente manera:

Se seleccionaron dos mezclas factibles de sustratos en un proceso de optimización mediante programación lineal y no lineal a partir de las propiedades físicas de cuatro sustratos (inorgánicos y orgánicos): tezontle, perlita, peat-moss y aserrín de coco. Se establecieron para ello variables de diseño (balance de volúmenes, materia orgánica, espacio poroso total, y capacidad de aire) y valores finales para cada una de las propiedades de la mezcla a diseñar (restricciones). La función objetivo fue minimizar los costos de las mezclas en función de tres niveles de restricción para cada una de las

variables de diseño (Requejo, 2008). Se cribaron los sustratos el tezontle, perlita y fibra de coco (se seleccionaron las fibras menores de 4 cm) con un tamiz de 2mm. El tezontle se colocó en bolsas de tela y se esterilizó a 120°C por 60 minutos. Las mezclas optimizadas de sustratos (S1 = 6% Coco+ 94% Perlita y S2 = 51.1% Coco + 28.97% Perlita +19.92% Tezontle) se prepararon en base al porcentaje a utilizar y al volumen de la maceta. Las macetas se llenaron con la mezcla de sustratos y se saturaron en agua destilada por dos días, posteriormente se lavó el sustrato para eliminar sales hasta llegar a cero mS. Las vitroplantas se sacaron del frasco con medio nutritivo y se lavaron con agua corriente para eliminar el medio adherido a las raíces, luego se sumergieron en una solución con bactericida y fungicida por tres minutos y se establecieron en las macetas con mezclas de sustratos.

Las plántulas fueron acomodadas en cámaras plásticas para mantener los niveles de humedad arriba del 90% y fueron regadas con dos soluciones nutritivas: SN1). Fertilizante foliar Grofol® a concentración de 0.66% (1 meq L⁻¹) y SN2). MS al 50%.

La altura, el diámetro, la longitud de raíz, el peso fresco, el peso seco y el porcentaje de sobrevivencia de las plantas fueron evaluados a los 60 días.

Se utilizó un diseño completamente al azar para ***M. haageana*** subsp. ***san-angelensis*** y ***O. denegrii*** con cuatro tratamientos obtenidos de la combinación de dos mezclas de sustratos y dos soluciones nutritivas.

Los cuadros 3.1 y 3.2 corresponden a los tratamientos evaluados en la aclimatización de ambas especies

Cuadro 3.1 Tratamientos evaluados en la aclimatización de *M. haageana* subsp. *san-angelensis*.

Tratamiento	Genotipo 1	Sustratos	Soluciones
1	<i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i> .	S1 = 6% C+ 94% P	SN1= Grofol [®] 0.66%
2	<i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i> .	S1 = 6% C+ 94% P	SN2 = MS 50%
3	<i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i> .	S2 = 51.1% C + 28.97%P +19.9%2 T	SN1 =Grofol [®] 0.66%
4	<i>M. haageana</i> subsp. <i>san-angelensis</i> .	S2 = 51.1% C + 28.97%P +19.9%2 T	SN2 = MS 50%

C= Coco P= Perlita T= Tezontle SN= solución Nutritiva

Cuadro 3.2 Tratamientos evaluados en la aclimatización de *O. denegrii*

Tratamiento	Genotipo 2	Sustratos	Soluciones
1	<i>O. denegrii</i>	S1 = 6% C+ 94% P	SN1= Grofol [®] 0.66%
2	<i>O. denegrii</i>	S1 = 6% C+ 94% P	SN2 = MS 50%
3	<i>O. denegrii</i>	S2 = 51.1% C+ 28.97%P +19.9%2 T	SN1 =Grofol [®] 0.66%
4	<i>O. denegrii</i>	S2 = 51.1% C+ 28.97%P +19.9%2 T	SN 2 = MS 50%

C= Coco P= Perlita T= Tezontle SN= Solución Nutritiva

3.3.1 Preparación de soluciones Nutritivas

Se utilizaron dos soluciones nutritivas: SN1= fertilizante foliar Grofol[®] cuadro A.2 del apéndice a concentración de 0.66% (1 meq L⁻¹) y SN2= MS al 50% para regar.

La solución de Grofol[®] se elaboró de la siguiente manera:

Se pesaron 0.14 g L⁻¹ de Grofol[®], se añadieron 500 ml de agua destilada, se mezclaron en una parrilla de agitación y se aforó a un litro.

La preparación de la solución de MS al 50 % se realizó de la siguiente manera:

En un vaso de precipitado se colocó el 50% de la cantidad base de macronutrientes, micronutrientes, vitaminas y solución de fierro y se agregaron 500ml de agua destilada, se colocó en una parrilla de agitación y una vez ya mezclado se aforó a un litro.

Las soluciones se almacenaron en el refrigerador listas para cada riego.

Los riegos se realizaron de la siguiente manera:

Los riegos se aplicaron cada vez que se consumió el 10 % del peso inicial de la maceta + mezcla de sustrato + plántula. Tomando en cuenta que drene un 25 % de la solución aplicada se ajustó la cantidad a regar. Se aplicaron 30 ml de solución para el tratamiento 1 y 40 ml para el tratamiento 2 en los dos genotipos.

3.4 Modelo estadístico

Completamente al azar

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad \begin{array}{l} i = 1, 2, 3, \dots, t \\ j = 1, 2, 3, \dots, n \end{array}$$

Donde:

Y_{ij} = Variable respuesta correspondiente al i -ésimo tratamiento y a la j-ésima repetición

μ = Media general

τ_i = Efecto del tratamiento i.

ε_{ij} = Error aleatorio

IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fase I. Propagación *in vitro* de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* y *O. denegrii*

La propagación de brotes de ambas especies se realizó durante 200 días (tiempo en el que se trasvasó *O. denegrii* cada 15 días y *M. haageana* subsp. *san-angelensis* cada mes). Se seleccionaron 20 brotes de cada especie para llevar a cabo la siguiente etapa de enraizamiento *in vitro*.



Figura 4.1 Propagación *in vitro* de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* y *O. denegrii*.

Fase II. Enraizamiento *in vitro* de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* y *O. denegrii*

Los cuadros 4.1 y 4.2 corresponden a los análisis de varianza (ANVA) para longitud de raíz de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* y *O. denegrii* donde se probaron tres tratamientos de ácido salicílico (0.0 mg L^{-1} , 0.5 mg L^{-1} ; 1.0 mg L^{-1}). El ANVA no mostró diferencias significativas entre tratamientos al $\alpha = 0.05$. El coeficiente de variación fue de 34.01% para *M. haageana* subsp. *san-*

angelensis y de 36.10% para **O. denegrii**. Lo que refleja un nivel de moderada a alta aleatoriedad de los resultados.

Cuadro 4.1 Análisis de varianza para longitud de raíz de **M. haageana** subsp. **san-angelensis**.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	2	4.497353	2.248676	2.7761	0.101
ERROR	12	9.719986	0.809999		
TOTAL	14	14.217339			
C.V. = 34.01 %					

Cuadro 4.2 Análisis de varianza para la longitud de raíz de **O. denegrii**.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	2	0.065333	0.032667	0.3984	0.684
ERROR	12	0.984000	0.082000		
TOTAL	14	1.049334			
C.V. = 36.10 %					

Las Figuras 4.2 y 4.3 muestran las plantas obtenidas en los tratamientos con ácido salicílico (T1=0.0 mg L⁻¹, T2=0.5 mg L⁻¹ y T3=1.0 mg L⁻¹) para enraizar in vitro brotes de **M. haageana** subsp. **san-angelensis** y **O. denegrii** a los 60 días de establecimiento.



Figura 4.2 Enraizamiento *in vitro* de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* T1, T2, T3.



Figura 4.3 Enraizamiento *in vitro* de *O. denegrii* T1, T2, T3.

Los brotes de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* y *O. denegrii* presentaron un enraizamiento adecuado con todos los tratamientos incluyendo, al testigo, lo que indicó que contenían cantidades suficientes de reguladores endógenos sobre todo de auxinas responsables de la formación de raíces. Estos resultados coinciden con los mencionados por Enríquez, (2001), al enraizar *in vitro* tomate variedad Daniela con ácido salicílico y con Clayton *et al.*, (1990) y Choreño *et al.*, (2002) quienes mencionan que en brotes de cactáceas colocados en un medio sin reguladores generaron espontáneamente las raíces.

Los resultados difieren con Mora-Herrera y López-Delgado (2004) quienes mencionan que las microplantas de papa cultivadas en presencia de AS mostraron inhibición en el crecimiento en el tallo y raíces.

Tercera fase: Aclimatización de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* y *O. denegrii*.

En esta fase se seleccionaron plantas homogéneas es decir del mismo tamaño proveniente de la fase de enraizamiento e iniciar así la aclimatización.

El período de aclimatización culminó a los 60 días (Figura 4.4). Los datos de las variables establecidas (altura de la planta, diámetro de la planta, longitud de raíz, peso fresco, peso seco y porcentaje de sobrevivencia) fueron registrados y con ellos se realizaron los análisis de varianza.



M. haageana subsp. *san-angelensis*

O. denegrii

Figura 4.4 Aclimatización de plantas de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* y *O. denegrii*.

Aclimatización de *M. haageana* subsp. *san-angelensis*.

El Cuadro 4.3 muestra el análisis de varianza para altura de la planta de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* a los 60 días de establecidas en dos mezclas de sustratos y regadas con dos soluciones nutritivas. El ANVA no presentó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. El

coeficiente de variación fue de 12.63% lo que indicó una respuesta notablemente homogénea a los tratamientos evaluados.

Cuadro 4.3 Análisis de varianza para altura de la planta de *M. haageana* subsp. *san-angelensis*.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	57.250000	19.083334	1.2975	0.320
ERROR	12	176.500000	14.708333		
TOTAL	15	233.750000			
C.V. = 12.63 %					

El Cuadro 4.4 presenta el análisis de varianza para diámetro de la planta de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* los 60 días de establecidas en dos mezclas de sustratos y regadas con dos soluciones nutritivas. El ANVA no presentó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. El coeficiente de variación fue de 12.66%, valor asociado con la respuesta similarmente homogénea a los tratamientos evaluados.

Cuadro 4.4 Análisis de varianza para el diámetro de las planta de *M. haageana* subsp. *san-angelensis*.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	19.611084	6.537028	2.7319	0.083
ERROR	14	33.500000	2.392857		
TOTAL	17	53.111084			
C.V. = 12.66 %					

El Cuadro 4.5 muestra el análisis de varianza para longitud de raíz de la planta de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* a los 60 días de establecidas en dos mezclas de sustratos y regadas con dos soluciones nutritivas. El ANVA mostró

diferencia estadística altamente significativa entre tratamientos. El coeficiente de variación fue de 21.18% lo que indicó una respuesta concreta de la planta ante los tratamientos evaluados.

Cuadro 4.5 Análisis de varianza para longitud de raíz en *M. haageana* subsp. *san-angelensis*.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	266.407227	88.802406	11.6738	0.001
ERROR	11	83.676758	7.606978		
TOTAL	14	350.083984			
C.V. = 21.18 %					

El Cuadro 4.6 correspondiente a la comparación de medias reportó que los tratamientos T1, T3 y T2 fueron mayores para longitud de raíz estos difieren del tratamiento T4 donde se utilizó la mezcla de sustratos S2= 51.1% C+ 28.97% P + 19.9% T regado con la solución nutritiva SN2= MS al 50%. Esto indicó que el tratamiento 4 presenta características desfavorables para el crecimiento de la raíz debido a que mostró un espacio poroso total del 70 por ciento asociado con un valor de retención de agua de 73 por ciento, mientras que el T1 conformado por 94 por ciento de perlita mas 6 de coco registró 66 de EPT y 64 de retención de agua y sin duda el factor que influyó en la respuesta observada fue la materia orgánica. En el primer caso se tuvo un 30 por ciento mientras que en el segundo se registró un dos por ciento. Entonces la retención del primer tratamiento fue desfavorable para el óptimo crecimiento de la raíz.

Cuadro 4.6 Comparación de medias correspondiente a la longitud de raíz de *M. haageana* subsp. *san-angelensis*.

TRATAMIENTO	MEDIA
1	17.2500 A
3	15.5000 A
2	12.7667 A
4	6.5000 B
Nivel de significancia = 0.05	

El Cuadro 4.7 presenta el análisis de varianza para peso fresco de la planta de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* a los 60 días de establecidas en dos mezclas de sustratos y regadas con dos soluciones nutritivas. El ANVA presentó diferencias estadísticas altamente significativas entre los tratamientos. El coeficiente de variación fue de 18.68% valor indicador de la fiel respuesta de la especie vegetal a los tratamientos.

Cuadro 4.7 Análisis de Varianza para peso fresco *M. haageana* subsp. *san-angelensis*.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	6.322250	2.107417	6.9184	0.005
ERROR	13	3.959915	0.304609		
TOTAL	16	10.282166			
C.V. = 18.68 %					

El Cuadro 4.8 correspondiente a la comparación de medias reportó que el tratamiento con mayor peso fresco fue el T4 donde se utilizó la mezcla de sustratos S2= 51.1% C+ 28.97% P + 19.9% T con la solución nutritiva SN2= MS al 50% y no hubo diferencia entre T1, T2 y T3. Esto indica que el T4 al ser regado con MS al 50% y combinado con las propiedades físicas de la mezcla,

que posee una retención mayor de agua (73 % contra 64 % del tratamiento conformado por 94 % de perlita mas 6 % de coco), provocó que a pesar de que la planta presentaba raíces pequeñas pudiera disponer de cantidades suficientes de agua para ser transportada a la parte aérea dando más peso fresco.

Cuadro 4.8 Prueba Medias de peso fresco *M. haageana* subsp. *san-angelensis*.

TRATAMIENTO	MEDIA
4	3.9550 A
2	2.9800 B
3	2.6980 B
1	2.2498 B
Nivel de significancia = 0.05	

El Cuadro 4.9 muestra el análisis de varianza para peso seco de la planta de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* a los 60 días de establecidas en dos mezclas de sustratos y regadas con dos soluciones nutritivas. El ANVA presentó diferencia estadística altamente significativa entre los tratamientos. El coeficiente de variación fue de 15.70% lo que indicó que la respuesta de las plantas a los tratamientos fue diferente en al menos un tratamiento.

Cuadro 4.9 Análisis de varianza para peso seco de *M. haageana* subsp. *san-angelensis*.

	FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS		3	0.020188	0.006729	10.2795	0.002
ERROR		12	0.007856	0.000655		
TOTAL		15	0.028044			
C.V. = 15.70 %						

El Cuadro 4.10 correspondiente a la comparación de medias reportó que el tratamiento con mayor peso seco fue el T2 donde se utilizó la mezcla de sustratos S1= 6% de fibra de coco + 94% de perlita que fue regada con la SN2 = MS al 50% con un peso de 0.2213 g, esto refleja que la planta al presentar un buen desarrollo de la raíz, permitió asimilar la mayor cantidad de nutrientes suministrados a través del riego tomando en cuenta que la solución de MS al 50% contiene más nutrientes en comparación a la solución a base de Grofol. La planta reaccionó de tal manera que aprovechó mejor los nutrientes transformándolos a materia seca.

Cuadro 4.10 Prueba de medias para peso seco en *M. haageana* subsp. *san-angelensis*.

TRATAMIENTO	MEDIA
2	0.2213 A
1	0.1585 B
4	0.1452 B
3	0.1268 B
Nivel de significancia = 0.05	

El porcentaje de sobrevivencia de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* con los cuatro tratamientos probados fue del 100% lo que indicó que las mezclas de sustratos y las soluciones nutritivas empleadas fueron adecuadas para garantizar una óptima sobrevivencia.

Aclimatización de *O. denegrii*

El Cuadro 4.11 muestra el análisis de varianza para altura de la planta de *O. denegrii* a los 60 días de establecidas en dos mezclas de sustratos y regadas con dos soluciones nutritivas. El ANVA no presentó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. El coeficiente de variación fue de 15.44% lo que indicó una respuesta homogénea para cada tratamiento evaluado.

Cuadro 4.11 Análisis de varianza para altura de planta en *O. denegrii*.

	FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS		3	16.029419	5.343140	2.9558	0.071
ERROR		13	23.500000	1.807692		
TOTAL		16	39.529419			
C.V. = 15.44 %						

El Cuadro 4.12 presenta el análisis de varianza para diámetro de planta de *O. denegrii* a los 60 días de establecidas en dos mezclas de sustratos y regadas con dos soluciones nutritivas. El ANVA reportó que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. El coeficiente de variación fue de 20.15% esto es un indicativo de que las plantas presentan un comportamiento similar en todos los tratamientos utilizados.

Cuadro 4.12 Análisis de varianza para diámetro de planta en *O. denegrii*.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	12.014709	4.004903	2.6361	0.093
ERROR	13	19.750000	1.519231		
TOTAL	16	31.764709			
C.V. = 20.15 %					

El Cuadro 4.13 corresponde al análisis de varianza para longitud de raíz de planta de *O. denegrii* a los 60 días de establecidas en dos mezclas de sustratos y regadas con dos soluciones nutritivas. El ANVA no expresó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. El coeficiente de variación fue de 28.57% lo que indicó que los tratamientos fueron aptos para el desarrollo radicular por lo cual no existió variación.

Cuadro 4.13 Análisis de varianza para longitud de raíz en *O. denegrii*

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	5.428589	1.809530	0.3120	0.818
ERROR	10	58.000000	5.800000		
TOTAL	13	63.428589			
C.V. = 28.57 %					

El Cuadro 4.14 muestra el análisis de varianza para peso fresco en *O. denegrii* a los 60 días de establecidas en dos mezclas de sustratos y regadas con dos soluciones nutritivas. El ANVA no detectó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. El coeficiente de variación fue de 39.02% lo que muestra homogeneidad a la respuesta de los tratamientos.

Cuadro 4.14 Análisis de varianza para peso fresco en *O. denegrii*.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	0.035257	0.011752	1.9553	0.179
ERROR	11	0.066117	0.006011		
TOTAL	14	0.101373			
C.V. = 39.02 %					

El Cuadro 4.15 presenta el análisis de varianza para peso seco de la planta de *O. denegrii* a los 60 días de establecidas en dos mezclas de sustratos y regadas con dos soluciones nutritivas. El ANVA presentó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. El coeficiente de variación fue de 80.62%, lo que indica que al menos uno de los tratamientos produjo una respuesta significativa en la variable medida en esta especie y que el resto de tratamientos generaron respuestas aleatorias, traduciéndose esto en un valor alto del coeficiente de variación.

Cuadro 4.15 Análisis de varianza para peso seco en *O. denegrii*.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	0.007974	0.002658	5.6464	0.014
ERROR	11	0.005178	0.000471		
TOTAL	14	0.013152			
C.V. = 80.62 %					

El Cuadro 4.16 corresponde a la comparación de medias de peso seco en *O. denegrii*, reportó que el tratamiento que obtuvo mayor peso seco fue T2= con 6% de coco + 94% de perlita regada con la solución nutritiva de MS al 50 % dando un peso de 0.0727 g esto indica que este tratamiento al ser un sustrato que retiene cantidades adecuadas de agua (64 %) le permite a la planta

asimilar los nutrientes y desarrollarse mejor de una manera estructural dándole un mayor peso seco.

Cuadro 4.16 Comparación de medias para peso seco de *O. denegrii*

TRATAMIENTO	MEDIA
2	0.0727 A
3	0.0196 B
1	0.0169 B
4	0.0119 B

El porcentaje de sobrevivencia para la especie de *O. denegrii* a los 60 días de aclimatización se presenta en el Cuadro 4.17. El Tratamiento1 tuvo un 100% de sobrevivencia y los tratamientos T2, T3 y T4 presentaron un 80% de sobrevivencia. Esta respuesta quizá se asocia con la condición física adecuada del sustrato T1 en combinación con el nivel nutricional menor del Grofol en comparación al medio MS al 50%. Se observa que al incrementar la nutrición del tratamiento T2 y la retención de humedad del tratamiento a base de coco, perlita y tezontle el porcentaje de sobrevivencia disminuye.

Cuadro 4.17. Porcentaje de sobrevivencia para *O. denegrii* a los 60 días.

Tratamientos	Porcentaje de sobrevivencia
T1= S1 = 6% C+ 94% P + SN1 = Grofol	100%
T2= S1 = 6% C+ 94% P + SN2 = MS 50%	80%
T3 = S2 = 51.1% C+ 28.97%P +19.9%2 T + SN1 =Grofol	80%
T4= S2 = 51.1% C+ 28.97%P +19.9%2 T + SN 2 = MS 50%	80%

La Figura 4.5 muestra el porcentaje de sobrevivencia para *M. haageana* subsp. *san-angelensis* y *O. denegrii* con los cuatro tratamientos utilizados durante la aclimatización a los 60 días de establecimiento. Puede apreciarse que la especie de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* obtuvo el 100% de sobrevivencia en las mezclas de sustratos y soluciones nutritivas usadas. Mientras que *O. denegrii* obtuvo el 100% con el T1 y el 80% en el T2, T3 y T4. La respuesta varió dado que los genotipos evaluados fueron muy contrastantes, es decir, fueron diferentes en tamaño y en velocidad de crecimiento y desarrollo.

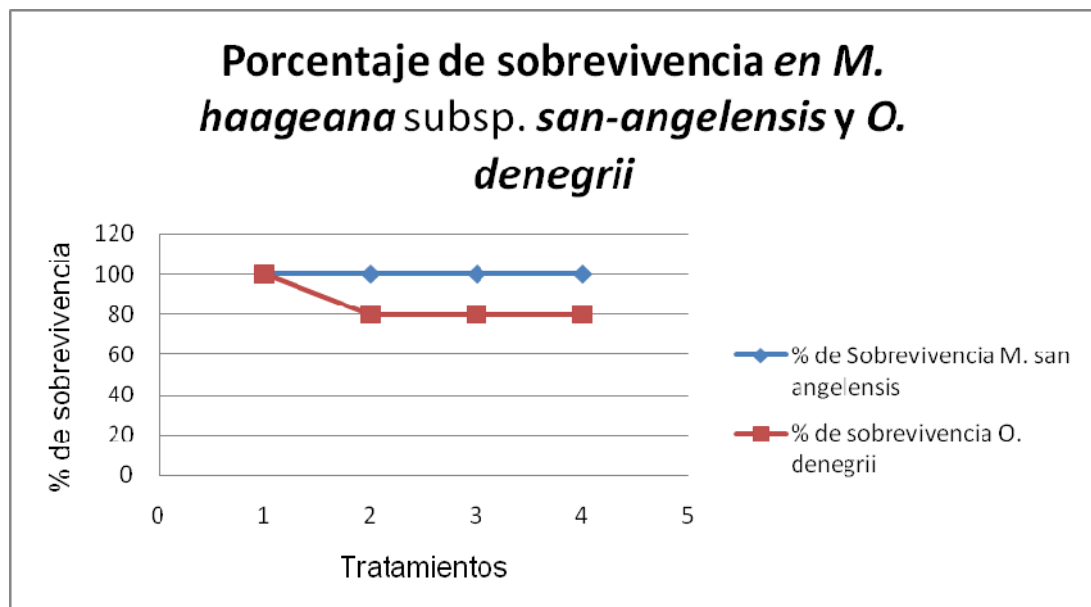


Figura 4.5. Porcentaje de Sobrevivencia en *M. haageana* subsp. *san-angelensis* y *O. denegrii*.

La Figura 4.6 muestra plantas de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* (en la parte superior) y *O. denegrii* (en la parte inferior) después del manejo de aclimatización



Figura 4.6. Plantas de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* y *O. denegrii* después del manejo de aclimatización.

Las variables evaluadas en *M. haageana* subsp. *san-angelensis* que presentaron diferencias significativas entre tratamientos fueron: longitud de raíz, peso fresco y peso seco. Los mejores tratamientos para longitud de raíz fueron T1, T2 y T3 (T1 = 6% coco + 94% perlita (S1) + Grofol® 0.66% (SN1), T2 = 6% coco + 94% perlita (S1) + MS al 50% (SN2) y T3 = 51.11% aserrín de coco+ 28.97% perlita + 19.92% tezontle (S2) + Grofol® 0.66% (SN1)). El Tratamiento T4 (T4= 51.11% aserrín de coco+ 28.97% perlita + 19.92% tezontle (S2) + MS al 50% (SN2)) fue el mejor para peso fresco y el tratamiento T2 (T2 = 6% coco + 94% perlita (S1) + MS al 50% (SN2) fue el mejor para peso seco con un 100% de sobrevivencia de las plántulas. *O. denegrii* solo presentó diferencia significativa entre tratamientos para peso seco donde el tratamiento T2 (T2 = 6% coco + 94% perlita (S1) + MS al 50% (SN2) fue el mejor lo que coincidió con *M. haageana* subsp. *san-angelensis* pero presentó un 80% de sobrevivencia de las plántulas.

Espitia (2005) y Castañeda (2004) al trabajar con aclimatización de cactáceas encontraron que la mejor solución nutritiva fue MS al 50% al producir plantas con más altura y diámetro resultados que coinciden con los obtenidos en este

trabajo donde tanto la solución de MS al 50% como Grofol[®] 0.66% generaron buenos resultados en altura de diámetro de plántulas en ambas especies.

Farré, 2001 resalta la importancia de contar con mezclas de sustratos que permitan una buen drenaje, buena alimentación, buen desarrollo de raíces y por ende buena sobrevivencia de las plantas, en este trabajo las dos mezclas seleccionadas de sustratos en combinación con MS al 50% y Grofol[®] fueron adecuadas y permitieron niveles de sobrevivencia del 100% en *M. haageana* subsp. *san-angelensis*, mientras que el tratamiento a base de perlita y coco combinado con Grofol[®] permitió el 100% de sobrevivencia en *O. denegrii*.

Durante la etapa de enraizamiento las diferentes concentraciones de ácido salicílico no modificaron el desarrollo de raíces, estas se generaron debido a la concentración de reguladores endógenos que poseía el material, lo anterior permite el rechazar la hipótesis planteada.

En la fase de Aclimatización los cuatro tratamientos evaluados (T1 = 6% coco + 94% perlita (S1) + Grofol[®] 0.66% (SN1), T2 = 6% coco + 94% perlita (S1) + MS al 50% (SN2), T3 = 51.11% aserrín de coco+ 28.97% perlita + 19.92% tezontle (S2) + Grofol[®] 0.66% (SN1) y T4= 51.11% aserrín de coco+ 28.97% perlita + 19.92% tezontle (S2) + MS al 50% (SN2)) fueron adecuados para aclimatizar plántulas de *M. haageana* subsp. *san-angelensis*.

La aclimatización de *O. denegrii* muestra en las variables evaluadas una similitud entre tratamientos lo que indica que las mezclas fueron adecuadas para esta especie.

El porcentaje de sobrevivencia para *M. haageana* subsp. *san-angelensis* fue de 100% con los tratamientos evaluados.

El porcentaje de sobrevivencia de *O. denegrii* difiere entre tratamientos dando como respuesta que el T1 es mejor para llevar acabo esta fase con óptimos resultados ya que permitió alcanzar el 100% de sobrevivencia de las plántulas

Lo anterior implica que se acepta la hipótesis planteada es decir los dos sustratos tuvieron influencia en la aclimatización y porcentaje de sobrevivencia de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* y *O. denegrii*.

V CONCLUSIONES

Fase de propagación *in vitro*. Se generaron brotes de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* y *O. denegrii* de los que se seleccionaron los mejores para iniciar la fase de enraizamiento *in vitro*.

Fase de enraizamiento *in vitro*. Se promovió la generación y desarrollo de raíces que permitieron la obtención de plántulas de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* y *O. denegrii* en tres tratamientos probados (T1= testigo ácido salicílico 0.0 mg L⁻¹, T2 = ácido salicílico 0.5 mg L⁻¹ y T3 = ácido salicílico 1.0 mg L⁻¹).

Fase de aclimatización. Los tratamientos que generaron mayor longitud de raíz para *M. haageana* subsp. *san-angelensis* fueron T1 = 6% coco + 94% perlita (S1) + Grofol[®] 0.66% (SN1), T2 = 6% coco + 94% perlita (S1) + MS al 50% (SN2) y T3 = 51.11% aserrín de coco+ 28.97% perlita + 19.92% tezontle (S2) + Grofol[®] 0.66% (SN1). El tratamiento T4= 51.11% aserrín de coco+ 28.97% perlita + 19.92% tezontle (S2) + MS al 50% (SN2) fue el que mayor incrementó el peso fresco y el tratamiento T2 = 6% coco + 94% perlita (S1) + MS al 50% (SN2)) fue el que incrementó más el peso seco para *M. haageana* subsp. *san-angelen* y *O. denegrii*.

Los cuatro tratamientos evaluados T1 = 6% coco + 94% perlita (S1) + Grofol[®] 0.66% (SN1), T2 = 6% coco + 94% perlita (S1) + MS al 50% (SN2), T3 = 51.11% aserrín de coco+ 28.97% perlita + 19.92% tezontle (S2) + Grofol[®] 0.66% (SN1) y T4= 51.11% aserrín de coco+ 28.97% perlita + 19.92% tezontle (S2) + MS al 50% (SN2) fueron adecuados para aclimatizar plántulas de *M. haageana* subsp. *san-angelensis* con 100% de sobrevivencia y el tratamiento T1 = 6% coco + 94% perlita (S1) + Grofol[®] 0.66% (SN1) fue el mejor en la aclimatización de *O. denegrii* con 100% de sobrevivencia.

Es recomendable establecer parámetros de evaluación más rigurosos (a nivel estructural) que permitan una mayor uniformidad en las plantas a aclimatar para asegurar el 100% de sobrevivencia y un óptimo desarrollo.

VI LITERATURA CITADA

- Abad, B. M; Noguera, M. P. y Carrión, B. C. 2005. Sustratos para el cultivo sin suelo y fertirrigación. En fertirrigación. Cultivos hortícolas, frutales y Ornamentales. Coordinado por Carlos Cadahia L. pp. 299-354. Ediciones Mundi-Prensa. España.
- Barba, A. A; Luna, R. B. S; Romero, A. J. 2001. Micropropagación de plantas, 1ª edición, editorial trillas. México D.F.
- Bojórquez, Q. C. M y Gutiérrez, C. M. A. 2000. Memorias de XVIII Congreso Nacional de Fitogenética Universidad de Guanajuato. 1ª ed. Chapingo, México.
- Boutherin, D. y Bron, G. 2002. Reproducción de las plantas hortícolas. Ediciones Omega, Barcelona España.
- Bravo, H. 1937. Las cactáceas de México. Segunda parte. UNAM, México. Pp 386-388.
- Bravo, H. y H. Sánchez- Mejorada H. 1991. Las cactáceas de México Volumen III. Universidad Nacional Autónoma de México. 1ª edición, vol. III. 404 pp.
- Bravo, H. y H. Sánchez- Mejorada. 1978. Las cactáceas de México. Volumen I. 2ª edición, UNAM Ciudad Universitaria, México, D.F. 719 pp.
- Bravo, H. y Scheinvar, L. 1999. El interesante mundo de las cactáceas, Editorial Fondo de cultura Económica México, México D, F. 2ª ed. Pp 99 -199.
- Burés, S. 1997. Sustratos. Agrotecnia. Madrid, España. 339 p.
- Cadahia, L. C. 2005. Fertirrigación. Cultivos hortícolas, frutales y ornamentales. 3ª Edición. Ediciones Mundi- Prensa, Madrid España.
- Castañeda, S. E. E. 2004. Aclimatización de *Mammillaria plumosa in vitro*. Tesis de Licenciatura. Saltillo, Coahuila, México.

- Castellanos, J. Z. 2004. Manual de producción hortícola en invernadero. 2ª edición. Instituto para la innovación tecnológica en la Agricultura en México.
- Choreño, T. J. M; González R. H; Terrazas, S. T; Hernández, L. A. 2002. Propagación *in vitro* de *Cephalocereus senilis* Haworth Pfeiffer a partir de aréolas. Revista Chapingo Serie Horticultura 8: (2): 183-196.
- Cid, J. 2006. El tezontle como sustrato. México, D.F. disponible en : <http://www.microplanta.com/articulos/2006/03/12/el-tezontle-como-sustrato/>
- Clayton, P.W; Hubstenberger, J.F; Phillips, G. and Butler, S. 1990. Micropropagation of members of the Cactaceae subtribe Cactinae. HortScience. 115(2):337-343.
- Craig, T. R. 1945. The *Mammillaria* handbook . Printed in Pasadena, California, USA. 390 pp.
- Debergh, P.C. and Maene, I. J. 1981. Ascheme for commercial Propagation plants of ornamental plants by tissue culture. Scientia Hort 14: pág. 335-345.
- Díaz, P. N. 2002. Factibilidad Económica y Biológica del Grofol en cultivo de Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Tesis de Licenciatura, Saltillo, Coahuila, México.
- Enríquez, V. J. R; Castañeda, C. G; Sánchez, G. P; Rodriguez, M. M. N; Mendoza, C. M.C. 2001. Efecto de los ácidos acetilsalicílico en indolbutírico en el enraizamiento *in vitro* y rendimientos de Tomate (*Licopersicon esculentum* Mill.). Fitotecnia Mexicana, enero-junio vol. 24 numero 001 Sociedad Mexicana de Fitogenética A. C. Chapingo México pp.71-78.

- Escobedo, B. L. 2000. El cultivo de tejidos vegetales en la agricultura. Memorias de la primera semana de agronomía Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna, Torreón, Coahuila, México.
- Espitia, H. O. M. 2005. Aclimatización de *Turbinciarpus valdezianus* propagadas *in vitro*. Tesis de Licenciatura. Saltillo, Coahuila, México.
- Farré, A. C. 2001. El gran libro de los cactus y otras plantas crasas. Editorial de Vecchi Barcelona, España. Pp 19-79.
- Grupo Bioquímico Mexicano, S.A. de C.V. (GBM). 2009. Grofol, disponible en: <http://filsa.com.mx/plm/DEAQ/prods/615.htm> (consulta realizada en Enero del 2009).
- Handreck, K. and Black, N. 2002. Growing media for ornamental plants and turf. Third edition. University of New South Wales. Australia.
- Hartmann, H. y Kester, D. E. 1999. Propagación de plantas. Editorial Continental S. A de C.V. Edición. México. 760 pp.
- Hurtado, M. D. V y Merino, M. M. E. 2000. Cultivo de Tejidos Vegetales, Editorial trillas. Mexico. D.F. 232 pp.
- Isiordia, E; Nuñez, B; Ortigoza, X y Gutiérrez, M. A. 2000. Estudio del efecto de ácido salicílico en la estimulación de raíces y parte aérea de hortalizas en hidroponía bajo invernadero. Memorias de XVIII Congreso Nacional de Fitogenética. 1ª ed. Chapingo, México.
- Jankiewicz, S. L. 2003. Reguladores del crecimiento, desarrollo y resistencia en plantas, vol. 1 propiedades y acción. Ediciones Mundi-Prensa. México, D.F. 487 pp.
- Maiti, R. K; Singh V.P; Baquie, A; Sanchez, A. E; Wesche, E. P; Cuervo, P. J. A; Perdome, V. H. and Lorenzo, T. J. L. 2003. Cactus biology, propagation and conservation, Published by the Gaurav Society of ARIC, Hisar, India. 98 pp.

- Malda, B. G. 1997. Análisis del crecimiento de dos cactáceas amenazadas cultivadas *in vitro*. I Congreso Nacional sobre cactáceas en honor a Hellia Bravo Hollis. Edo de México. 42 pp.
- Martínez, M. C. 2007. Estimación del Consumo del agua en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en dos sistemas de producción sustrato y suelo, bajo condiciones de invernadero. Tesis de Ingeniero Agrónomo en Irrigación UAAAN, Saltillo, Coahuila, México.
- Martínez, V. O. y Rubluo, A. 1989. *In vitro* mass propagation of near-extinct *Mammillaria san-angelensis* Sánchez-Mejorada. Journal of Horticultural Science 64 (1) 99-105.
- Mora-Herrera, M. E. y López-Delgado, H. 2004. Tolerancia a baja temperatura inducida por ácido salicílico y peróxido de hidrógeno en microplantas de papa. Rev. Fitotec. Mex. Vol 27
- Morales, J; Casillas, L. y Hamabata, A. 1997. Efecto del sustrato y condiciones nutricionales en la producción de cactáceas. I congreso Nacional sobre cactáceas en honor a Hellia Bravo Hollis. Edo México. 45 pp .
- Murashige, T y Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum. 15: 437-497
- Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001. Protección ambiental. Especies nativas de México de flora y fauna silvestres. Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio. Lista de especies en riesgo. Instituto Nacional de Ecología. SEMARNAT. México, D.F.
- Pierik, R. L. M. 1990. Cultivo in vitro de las plantas superiores. Tercera edición. Ediciones Mundi-prensa, Madrid, España 326 pp.
- Requejo, L. R. 2008. Acondicionamiento nutricional de plántulas y optimización de sustratos en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) bajo invernadero.

Tesis de Doctorado en Ciencias Agrícolas. Facultad de Agronomía.
Universidad Autónoma de Nuevo León.

Salisbury, B. F. y Ross, W. C. 2000, fisiología de las plantas 3 Desarrollo de las plantas y fisiología ambiental. Editorial Thomson editores Spain Paraninfo S.A. Madrid España. Pp.567-636.

Sánchez, M. M. R y Pérez, M. B. E. 2007. Propagación in vitro de *Browningia candelaris* (Cactaceae) usando metatopolina. Boletín de la Sociedad Latinoamericana y del Caribe de Cactáceas y otras Suculentas. Bol. Soc. Latin. Carib. Cact. Suc. 4(2) mayo-agosto.

Santiago, B. J. M. 2001. El Tratamiento del Sustrato con Acido salicílico mejora la Adaptación de la Cebolla al Estrés de Agua. Tesis de Licenciatura. Saltillo, Coahuila, México.

Santiago, J. 2008. La era del coco. Ventajas del popular sustrato orgánico en la producción de chiles. Productores de Hortalizas A meister Publication. Disponible en: www.hortalizas.com/es/noticias/chiles_pimientos.html (consulta realizada en Enero del 2009).

Street, H. E. 1977. Growth Patterns in Tissue (callus) Cultures in: Plant Tissue and Cell Culture. Botanical Monographs. Vol. II, Ed. Blackwell Scientific Publications. Pp 267- 307.

Vilchez, J; Ramírez, E; Villasmil, M ; Albany, N; León de Sierralta, S; Molina, M. 2007. Aclimatización de vitroplantas de zábila (*Aloe vera* (L) Burm. f): efectos del sustrato. Rev. Fav. Agron. (LUZ). 2007, 24 Supl. 1: 57-61.

Weaver., J. R. 1996. Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura. 1ª edición, Editorial Trillas. México, D. F.

VII APENDICE

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

COMPUESTO	mg L ⁻¹	g L ⁻¹	g L ⁻¹
Macronutrientes			
NH ₄ NO ₃	1650	1.65	16.5
KNO ₃	1900	1.9	19
CaCl ₂ · 2 H ₂ O	332.23	0.332	3.322
KH ₂ PO ₄	170	0.17	1.7
Mg SO ₄ · 7H ₂ O	370	0.37	3.7
Micronutrientes			
KI	830	0.00083	0.0083
H ₃ BO ₃	6.2	0.0062	0.062
MnSO ₄ · 4H ₂ O	17	0.017	0.1288
ZnSO ₂ · 7H ₂ O	8.6	0.0086	0.086
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	250	0.00025	0.0025
CuSO ₄ · 5H ₂ O	25	0.000025	0.00025
CoCl ₂ · 6H ₂ O	25	0.000025	0.00025
Sol. de Fierro			
Na ₂ EDTA	37.3	0.0373	0.373
FeSO ₄ · 7H ₂ O	27.8	0.0278	0.278
Vitaminas			
Inositol	100	0.1	1
Ac. Nicotínico	0.5	0.0005	0.005
Piridoxina- HCl	0.5	0.0005	0.005
Tiamina- HCl	0.1	0.0001	0.001
Glicina	2	0.002	0.02
Carbohidratos			
Sacarosa		30	
Solidificante			
Agar		9	
pH		5.7	

Cuadro A. 2. Composición de solución nutritiva Grofol[®] .

Composición porcentual	Porcentaje en peso
Nitrógeno total	20%
Fósforo disponible.	30%
Potasio	10%
Azufre	480 ppm
Hierro	250 ppm
Zinc	250 ppm
Manganeso	125 ppm
Calcio	65 ppm
Magnesio	65 ppm
Cobre	65 ppm
Boro	65 ppm
Cobalto	12 ppm
Molibdeno	6 ppm
Fitohormonas	12 ppm