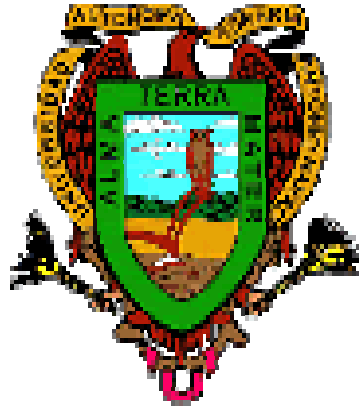


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

DIVISIÓN DE AGRONOMIA



GERMINACIÓN *IN VITRO* DE CUATRO ESPECIES DE CACTÁCEAS
Astrophytum myriostigma, Epithelantha micromeris, Ferocactus stainesii var. pringlei,
Normanbokea valdeziana

Por:
NORMA ALICIA SÁNCHEZ BONILLA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el Título De:

INGENIERO AGRONOMO EN AGROBIOLOGÍA

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
Junio 2004

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

GERMINACIÓN *IN VITRO* DE CUATRO ESPECIES DE CACTÁCEAS
Astrophytum myriostigma, Epithelantha micromeris, Ferocactus stainesii var. pringlei,
Normanbokea valdeziana

Por:
Norma Alicia Sánchez Bonilla

TESIS

Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador, como requisito parcial
Para obtener el título de Ingeniero Agrónomo en Agrobiología.

Aprobada por el Comité de Tesis:

Asesor Principal

Dra. Norma A. Ruíz Torres

Sinodal

Sinodal

Dr. Juan J. López González

Suplente

Ing. José A. de la Cruz Bretón

M.C. Myrna Julieta Ayala Ortega

Coordinador de la División de Agronomía

M.C. Arnoldo Oyervides García

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Junio del 2004

AGRADECIMIENTOS

*A **DIOS**: por ser mi guía en todo momento de mi vida.*

*A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro** por brindarme todos los conocimientos y la oportunidad de conseguir mi primer meta en la vida.*

*Con gran admiración y respecto a la **Dra. Norma A. Ruíz Torres**, al fungir como asesor principal de esta investigación.*

*Al **Dr. Juan José López González**, por sus sugerencias y apoyo brindado en varios aspectos de la investigación.*

*A todos los maestros que intervinieron en mi formación profesional, pero en especial al **Dr. Jesús Valdez Reyna**, por su ayuda desinteresada prestada durante mi formación.*

A mis excelentes amigos y compañeros de estudio de convivencia

A todas las personas que de alguna manera hicieron más placentera mi estancia en saltillo.

A ustedes por su amistad, mil gracias por su comprensión.

DEDICATORIA

A MIS PADRES:

Juan Sánchez Salas (†)

Zena Bonilla Gilbón

Por ser las personas más importante de mi vida, porque llenan un mundo de amor y cariño.

A MIS HERMANOS:

Principalmente a Javier Octavio, José Luis y Juan Ramón, Erika (mi cuñada) por todo el apoyo moral y económico brindado durante toda mi carrera y a mis sobrinos Luis Ángel, Sergio Javier y Rolando por toda la alegría que me han brindado.

No tengo palabras para poder expresar los quiero mucho y este triunfo también es de ustedes.

A LUIS ALBERTO:

Porque juntos compartimos los mejores momentos y siempre hubo un gran apoyo incondicional. Eres una de las personas más importantes en mi vida y a quien Quiero tanto.

A MIS AMIGOS:

Yahaira (mi mejor amiga), Zul, Tapia, Sesar, Cande, Chino (Veracruz), Yesi, Verónica, David, Chino, Lupita, Chuy R., Gera, Miriam, Pimienta, Chuy L. y a los que están en mi mente, porque juntos compartimos momentos de alegrías y tristezas gracias.

A ustedes con todo mi amor.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CUADROS.	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
INTRODUCCIÓN.	1
Objetivos	3
Hipótesis	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Importancia de las cactáceas	4
<i>Normanbokea valdeziana</i>	5
Clasificación Taxonómica	5
Descripción Botánica	5
<i>Ferocactus stainesii</i> (var. <i>pringlei</i>).	6
Clasificación Taxonómica	6
Descripción Botánica	7
<i>Astrophytum myriostigma</i>	7
Clasificación Taxonómica	7
Descripción Botánica	8
<i>Epithelantha micromeris</i>	9
Clasificación Taxonómica	9
Descripción Botánica	9
La Semilla.	11
Estructura de la semilla	12

Germinación de la Semilla	13
Descripción del proceso de germinación	14
Latencia de la semilla	17
Fitorreguladores y sustancias hormonales	18
Giberelinas	19
Su naturaleza	19
Funciones de las giberelinas	20
Germinación <i>In vitro</i>	21
MATERIALES Y METODOS	24
Localización geográfica del sitio experimental	24
Germinación	25
Esterilización de la semilla	25
Variables del análisis	26
Análisis estadístico	26
Diseño experimental	27
RESULTADOS Y DISCUSION	28
CONCLUSIONES	42
RESUMEN	43
LITERATURA CITADA	44

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Análisis de varianza para la variable días a germinación en <i>Normanbokea valdeziana</i>	28
2	Comparación de medias para DAG evaluada en <i>Normanbokea valdeziana</i>	29
3	Análisis de varianza para la variable días a germinación en <i>Ferocactus stainesii</i> (var. <i>pringlei</i>).	31
4	Comparación de medias para DAG evaluada en <i>Ferocactus stainesii</i> (var. <i>pringlei</i>).....	32
5	Análisis de varianza para la variable días a germinación <i>Astrophytum myriostigma</i>	34
6	Comparación de medias para DAG evaluada en <i>Astrophytum myriostigma</i>	35
7	Análisis de varianza para la variable días a germinación <i>Epithelantha micromeris</i>	37
8	Comparación de medias para DAG evaluada en <i>Epithelantha micromeris</i>	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Longitud de raíz por fecha de evaluación en <i>Normanbokea valdeziana</i>	30
2	Longitud de tallo por fecha de evaluación en <i>Normanbokea valdeziana</i>	30
3	Número de raíces por fecha de evaluación en <i>Normanbokea valdeziana</i>	31
4	Raíces secundarias por fecha de evaluación en <i>Normanbokea valdeziana</i>	31
5	Longitud de raíz por fecha de evaluación en <i>Ferocactus stainesii</i> (var. <i>pringlei</i>).	33
6	Longitud de tallo por fecha de evaluación en <i>Ferocactus stainesii</i> (var. <i>pringlei</i>).	33
7	Número de raíces por fecha de evaluación en <i>Ferocactus stainesii</i> (var. <i>pringlei</i>)	34
8	Raíces secundarias por fecha de evaluación en <i>Ferocactus stainesii</i> (var. <i>pringlei</i>).	34
9	Longitud de raíz por fecha de evaluación en <i>Astrophytum myriostigma</i>	36
10	Longitud de tallo por fecha de evaluación en <i>Astrophytum myriostigma</i>	36
11	Número de raíces por fecha de evaluación en <i>Astrophytum myriostigma</i>	37
12	Raíces secundarias por fecha de evaluación en <i>Astrophytum myriostigma</i>	37
13	Longitud de raíz por fecha de evaluación en <i>Epithelantha micromeris</i>	39

14	Longitud de tallo por fecha de evaluación en <i>Epithelantha micromeris</i>	39
15	Número de raíces por fecha de evaluación en <i>Epithelantha micromeris</i>	39
16	Raíces secundarias por fecha de evaluación en <i>Epithelantha micromeris</i>	39
17	Comparación del porciento de germinación en las cuatro especies de cactáceas con sus respectivos tratamientos. <i>Nbv</i> = <i>Normanbokea valdeziana</i> ; <i>Fp</i> = <i>Ferocactus stainesii</i> (var. <i>pringlei</i>); <i>Am</i> = <i>Astrophytum myriostigma</i> y <i>Em</i> = <i>Epithelantha micromeris</i>	40

I. INTRODUCCIÓN

Las cactáceas presentan un proceso difícil de germinación en su medio natural, y aun cuando los frutos producen generalmente numerosas semillas, sólo unas cuantas logran germinar. Como una alternativa para la propagación de estas especies, se practica la técnica de cultivo *in vitro*, considerada como una biotecnología y cuya aplicación abarca: la conservación de germoplasma, propagación de la especie, la producción de metabolitos secundarios y mejoramiento genético, entre otros (Murashige, 1974).

El crecimiento de las poblaciones rurales y su alto índice de marginalidad, la oportunidad de tener acceso a recursos limitados a través de la venta de ejemplares colectados en los ecosistemas naturales y el cambio de uso del suelo, son las principales causas de presión sobre las especies que consideramos amenazadas o en peligro de extinción.

En diversas partes del mundo existe afición por el cultivo de cactáceas, afición que radica en su diversidad de formas, como en la belleza de sus flores efímeras. Las cactáceas no sólo tienen importancia económica por sus cualidades como plantas ornamentales, las hay también alimenticias, forrajeras e industriales.

En los ecosistemas de las regiones áridas y sub-áridas del continente americano, las cactáceas son cruciales en la estabilidad de los mismos, por lo que

se hace necesario investigar y desarrollar tecnologías que permitan su preservación, pues debido a sus características fisiológicas especiales, las cactáceas son susceptibles a la extinción cuando ocurren cambios bruscos en su medio. Con tecnologías como el cultivo *in vitro* se puede proteger su diversidad y así preservar el recurso para su aprovechamiento (Bravo y Scheinvar, 1995).

En el presente trabajo se evaluaron cuatro tratamientos para determinar su efecto en el proceso de germinación, en cuatro especies (*Normanbokea valdeziana*, *Ferocactus stainesii* (var. *pringlei*), *Astrophytum myriostigma* y *Epithelantha micromeris*), suculentas de zonas áridas.

OBJETIVOS

1. Asegurar un alto porcentaje de germinación en semillas de cactáceas a través del *cultivo in vitro*.

2. Acelerar el proceso de germinación en semillas de especies de cactáceas, aportando al medio de cultivo nutrientes y AG_3 en una concentración óptima.

HIPÓTESIS

Al incluir en el medio de cultivo nutrientes y AG_3 se acelera el proceso de germinación y se incrementa el porcentaje de la misma.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia de las Cactáceas

Las cactáceas son, quizá, las plantas más representativas del paisaje mexicano, especialmente de las zonas áridas. Se distribuyen en todo el continente Americano, la diversidad que alcanzan en México es sobresaliente ya que habitan cerca del 70% de las 800 a 1500 especies de esta familia. Además de la extraordinaria diversidad de especies, la gran variedad de formas de vida, así como las diversas estrategias que en tiempos evolutivos han desarrollado para hacer frente a la escasez de agua, hacen de las cactáceas un grupo biológica y ecológicamente muy interesante. El uso y aprovechamiento de las cactáceas ha sido amplio. Desde la época prehispánica hasta nuestros días, numerosas especies han sido fuente medicinal y alimenticia, además de que se han utilizado como elemento constructivo, en rituales mágicos y con fines ornamentales. Precisamente la fascinación que existe por las cactáceas como plantas de ornato es una de las razones por las que en la actualidad se les considera uno de los grupos mas amenazados de la flora mexicana. Desde el siglo pasado, millones de especimenes de cactáceas han sido extraídos de sus hábitats. Este saqueo ha sido la causa principal por la que, de acuerdo con la Unión Internacional para la Protección de la Naturaleza (IUCN), en México se registren 217 especies amenazadas, entre indeterminadas, raras, vulnerables y en peligro de extinción, lo

que, indica que su comercio internacional esta controlado y moni toreado bajo licencia (Glass, 1998).

Normanbokea valdeziana

Clasificación Taxonómica

REINO.....Vegetal

DIVISIÓN..... Magnoliophyta

CLASE.....Magnoliopsida

SUBCLASE.....Caryophyllidae

ORDEN.....Caryophyllales

FAMILIA.....Cactaceae

GENERO.....*Normanbokea*

ESPECIE.....*valdeziana*

(Cronquist, 1981)

Descripción Botánica

Plantas muy pequeñas, simples o rara vez cespitosas. Tallo globoso, con el tiempo un poco alargado, de 1 a 2.5 cm de diámetro; ápice hundido. Tubérculos dispuestos en 8 y 13 series espiraladas, de color verde glauco, cónicos, de 2 a 3 mm de longitud, de sección rómbica en la base, aplanadas lateralmente, con la punta roma. Areolas pequeñas, desde circulares hasta elípticas, algo lanosas. Espinas de 20 a 30, de 1.5 a 2.0 mm de longitud, muy delgadas, setosas, blancas, horizontales y mas o menos peptinadas. Flores brotando de las areolas de los tubérculos jóvenes en el ápice de la planta, infundibuliformes, de 20 a 30 mm de

longitud; pericarpelo desnudo, de 5 mm de diámetro; segmentos exteriores del perianto mas externos triangulares, de color verde oscuro, con el margen blanco; los segmentos intermedios oblongos, de 12 mm de longitud, poco acuminados, de color rojo violeta con el margen blanco; segmentos interiores del perianto linear-lanceolados, ligeramente acuminados, de color violeta rojizo con la línea media mas oscura y el margen mas claro; estambres numerosos, de color rosa; anteras de color amarillo oscuro; estilo rojo; lóbulos del estigma 6, de color verde amarillento; el botón floral al principio es de color café, conspicuamente ancho y truncado, mas tarde se vuelve esférico hasta subcuminado. Fruto globoso, de 7 mm de diámetro cuando madura, de color rojo castaño, después casi negro, conserva adheridos los restos del perianto, se abre longitudinalmente. Semillas piriformes, de 1 mm de longitud; hilo basal; testa tuberculada, negra (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991).

Ferocactus stainesii (var. pringlei)

Clasificación Taxonómica

REINO.....Vegetal
DIVISIÓN.....Magnoliophyta
CLASE.....Magnoliopsida
SUBCLASE.....Caryophyllidae
ORDEN.....Caryophyllales
FAMILIA.....Cactaceae
GENERO.....*Ferocactus*

ESPECIE.....*stainesii*

(Cronquist, 1981)

Descripción Botánica

Plantas globosas o cilíndricas, que habitualmente logran grandes proporciones. Costillas bien diferenciadas, gruesas. Areolas grandes. Espinas muy desarrolladas, rectas o encorvadas. Las flores brotan en las areolas jóvenes, sobre el grupo de espinas; son grandes, infundibuliformes o campaniformes, con el tubo corto; estambres numerosos, insertos en la garganta; tubo de la flor y pericarpelo escamosos; escamas con axilas desnudas. Fruto oblongo de paredes gruesas, mas o menos carnosos, comúnmente seco; la dehiscencia se realiza por un poro basal. Semillas negras, no podariadas (Rodríguez y Apezteguía, 1985).

Astrophytum myriostigma

Clasificación Taxonómica

REINO.....Vegetal

DIVISIÓN..... Magnoliophyta

CLASE.....Magnoliopsida

SUBCLASE.....Caryophyllidae

ORDEN.....Caryophyllales

FAMILIA.....Cactaceae

GENERO.....*Astrophytum*

ESPECIE..... *myriostigma*

(Cronquist, 1981)

Descripción Botánica

Tallo simple cespitoso, globoso hasta cilíndrico, de 10 a 60 cm de altura y de 10 a 20 cm de diámetro. Costillas generalmente 5 pero en algunas plantas hay 3, 4 o 6 y hasta 8, anchas y mas o menos pronunciadas y con aristas desde muy agudas hasta ligeramente redondeadas, con surco bien marcado; superficie cubierta de diminutas borlas de pelos estrellados, blancos, que proporciona a la planta un aspecto ceniciento, a veces este revestimiento falta; tegumentos muy duros. Areolas próximas, distantes entre sí 8 a 15 mm, circulares, pequeñas, de unos 3mm de diámetro, lanosas. Espinas ausentes. Flor campanulada de 4 a 6 cm de longitud, de color amarillo claro con tinte rojo en el centro; pericarpelo y tubo receptacular con escamas imbricadas, angostas, con el ápice escarioso, frecuentemente terminado por un mucrón; axilas de las escamas lanosas; segmentos del perianto angostos, acuminados, con la punta escariosa, de color castaño; segmentos interiores del perianto angostos y acuminados. Fruto globoso-alargado, verde, se abre al madurar en forma de estrella. Semillas naviculares; hilo muy amplio; testa casi negra, brillante, papilosa, de 3 mm de longitud y 2 mm de espesor (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991). Cactus globoso o cilíndrico, y con un tallo verde. Está completamente cubierto de diminutas escamas blanquecinas que ocultan el color de la base, y tiene de 4 a 8 costillas muy

pronunciadas. Tamaño de 10 a 20 cm de diámetro. Areolas lanosas y marrones; situadas a muy poca distancia entre sí, llegando incluso a tocarse, y a lo largo de las costillas. Sin espinas. Flores tipo margarita, de 4 a 6 cm de largo y 6 cm de diámetro, amarillas y a veces con el centro rojo. Brotan del centro del ápice. Periodo de floración diurno, en verano (Glass, 1996).

Epithelantha micromeris

Clasificación Taxonómica

REINO.....Vegetal

DIVISIÓN..... Magnoliophyta

CLASE.....Magnoliopsida

SUBCLASE.....Caryophyllidae

ORDEN..... Caryophyllales

FAMILIA.....Cactaceae

GENERO.....*Epithelantha*

ESPECIE.....*micromeris*

(Cronquist, 1981)

Descripción Botánica

Plantas pequeñas, simples o algo cespitosas. Tallo globoso, subgloboso o cortamente ovoideo, de 4 a 5 y hasta 8 cm, de altura por 2.5 a 6 cm de diámetro, cubierto por las espinas; ápice hundido y recubierto por un mechón de espinas erguidas. Tubérculos dispuestos en 21 y 34 series espiraladas, cónico-cilíndricos,

de 1.5 mm de longitud y 3 mm de altura, ocultos por las espinas. Areolas pequeñas, alargadas, dimorfas, la florífera adyacente a la espinífera, situadas en el ápice de los tubérculos, cuando jóvenes con lana blanquecina. Espinas de 13 a 28 y hasta 40 dispuestas en 1, 2 o 3 series, según la edad de la planta, generalmente son radiales, de 5 a 8 mm de longitud; todas son aciculares, barbeladas, glandulosas, blancas, o con tintes amarillentos, de color rosa castaño rojiza, pectinadas, horizontalmente radiadas, ascendentes; flores brotando de las areólas floríferas de los tubérculos jóvenes cercanos al ápice del tallo, muy pequeñas, infundibuliformes, abriéndose poco de 3 a 5 mm de longitud y de 3 a 6 mm de diámetro, emergiendo muy poco entre la lana y las espinas de ápice del tallo; pericarpelo algo claviforme, desprovisto de escamas; segmentos exteriores del perianto 3 a 5, hiperbólicos, de 1 a 2 mm de longitud y 2 mm de anchura, con el ápice redondeado y el margen irregularmente dentado, de color rosa pálido con la línea media mas oscura; segmentos interiores del perianto cerca de 5, casi obdeltoides, de 1 a 1.5 mm de longitud, de color rosa pálido: estambres de 10 a 15, de color amarillo claro; estilo amarillento; lóbulos del estigma 3 o 4, amarillentos. Fruto claviforme, generalmente largo y angosto de 3 a 12 mm de longitud y 1.5 a 5 mm de diámetro, sin escamas, rojo, sin conservar adheridos los restos secos del perianto. Semillas angostamente ovoides, de 1.5 a 2 mm de longitud, 1 mm de anchura y 0.8 mm de espesor; hilo largo, oblicuo, amplio y hundido; micrópilo en la porción aguda de las semillas; testa finamente reticulada; perisperma escaso; embrión corto, con los cotiledones apenas distinguibles (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991). Cactus poco corriente, globuloso, solitario o formando un grupo. Tiene un ápice redondeado pero ligeramente

cóncavo, lanoso y blanco. El tallo grueso y verde tiene filas en espiral de pequeños tubérculos muy próximos los unos de los otros y está prácticamente oculto por un tejido de espinas que suele cubrir la totalidad de la superficie. A menudo los vástagos crecen desde la base del tallo principal. En la base de las flores crecen bayas rojas. Tamaño de 6 cm de altura, y de 2.5 a 4 cm de diámetro. Areolas pequeñas; situadas en las puntas de los tubérculos, espinas, mechones de aproximadamente 0, blancas, tumbadas, y de hasta 2 mm de largo. Flores en forma de embudo, de aproximadamente de 1 cm de ancho, blancas o rosa pálido y con la garganta de un color más fuerte; brotan en grupos desde el centro del ápice. El periodo de floración es diurna, en verano. Crece en abono calcáreo, a una temperatura mínima de 10° C (Glass, 1996).

La Semilla

Las semillas de las cactáceas presentan variaciones en la forma, tamaño, estructura y color de la testa y en las características del embrión y en los tejidos almacenadores de sustancias nutritivas (Bravo-Hollis, 1978). Las semillas tienen forma esférica, ovoide, alargada, arriñonada, acorazonada, y hasta de gorra o sombrero. Su cáscara puede ser clara, parda en varios tonos y negra, y ser de opaca a muy brillante. Por lo regular, el hilo se encuentra cerca de la abertura del germen y tiene un modelo especial. Hay semillas con un arilo, apéndice carnoso y aceitoso. En el interior de las semillas, se encuentran algunos elementos que

posibilitan su germinación, como también reservas nutritivas par los primeros días de vida de la nueva planta (Rodríguez y Apezteguía, 1985).

La dispersión de las semillas en algunas especies, el fruto se seca y se agrieta, liberando las semillas; en otras, el fruto es húmedo y carnoso y las semillas se dispersan a través de lo excrementos de lo pájaros y animales que se alimentan de ellos. Muchos cactus se propagan también de forma vegetativa, a través de la producción de vástagos (Glass, 1996).

Estructura de la Semilla

En la semilla madura de cactáceas se distinguen las siguientes partes: el embrión, el perisperma, la testa, el micrópilo, el hilo, así como la carúncula, el estrofiolo y la cobertura funicular que existen en algunos géneros. La testa, que es la cubierta y procede de los tegumentos de los rudimentos seminales. Cada tegumento consta de dos capas de células que aumentan en la región micropilar. El tegumento interno deja una pequeña abertura que es el micrópilo por donde saldrá la radícula del embrión durante la germinación. El embrión es el primordio de la planta y en el están esbozados la radícula, los cotiledones, el epicótilo y el hipocótilo. El endosperma es un tejido de almacenamiento que se forma en el saco embrionario al efectuarse la fecundación, y que es digerido por el embrión durante su desarrollo; en algunos géneros como: *Astrophytum*, *Thelocactus* y *Toumeyia*, persiste como una capa sobre la radícula. El perisperma es también un tejido de almacenamiento formado a expensas de la nucela y que igualmente es

digerido durante el desarrollo del embrión. El hilo es la cicatriz que deja el funículo en la semilla al desprenderse, cuando madura, y su forma, tamaño y posición son variables: en *Astrophytum* es tan grande que sobresale el diámetro del cuerpo de la semilla. En algunas especies el funículo al desprenderse, deja en la semilla residuos mas o menos grandes que constituyen una estructura esponjosa llamada estrofiolo (Bravo-Hollis, 1978; Bravo-Hollis y Scheinvar, 1995).

Germinación de la semilla

Se define como la emergencia y desarrollo de aquellas estructuras esenciales que provienen del embrión y que son manifestaciones de la habilidad de la semilla para producir una planta normal bajo condiciones favorables (Moreno, 1976).

Por otra parte, la ISTA (1996), define a la germinación de semillas como la emergencia y desarrollo de la plántula a un estado donde el aspecto de sus estructuras esenciales indican si son o no capaces de desarrollarse en una planta satisfactoria y productiva bajo condiciones favorables de suelo y clima.

Se menciona que para que una semilla germine, ésta debe de cumplir tres condiciones: que la semilla sea viable, que existan condiciones internas favorables

en la semilla y que las condiciones del sustrato sean aptas para ello (Hartmann y Kester, 1995).

Se señala que la prueba de germinación fue diseñada para medir el máximo potencial de viabilidad de las semillas y se han establecido criterios para evaluar las plántulas al final de un período específico para determinar si poseen las estructuras necesarias para producir una planta normal, de aquí que la prueba requiere de las condiciones óptimas para obtener todo el potencial de germinación normal de la semilla (Sayers, 1982).

Descripción del Proceso de Germinación

La absorción de agua suele efectuarse en tres fases; una fase inicial de rápida absorción, una fase intermedia en la cual el contenido de agua de la semilla permanece casi constante y una fase final de intensa absorción que esta relacionada con el alargamiento de las células y la aparición de la radícula (Besnier, 1989).

Mc Donald y Nelson (1986) mencionan que conforme la semilla absorbe agua su potencial se vuelve menos negativo y el gradiente entre la semilla y la solución de inhibición disminuye.

Narro (1994) afirma que en la semilla la absorción implica el movimiento de agua de un área de alto potencial osmótico a otro de bajo potencial, pero sin la

ayuda de una membrana diferencialmente permeable. La presión de la inhibición de una semilla en germinación rompe la testa.

Edmon (1981) citado por García (1993) indica que al absorber agua las semillas se modifican las cubiertas, se remueven los imbibidores, se ablandan las semillas y se reduce el tiempo de germinación. En algunos casos se supera el letargo de la cubierta de la semilla y se estimula la germinación.

1) El agua del medio entra en la semilla por una diferencia entre el potencial hídrico del medio y el potencial hídrico de la semilla y tanto las células del embrión como del endospermo se hidratan y entran en actividad, por lo que la semilla se hincha; 2) Posterior a la imbibición de agua, viene la activación de enzimas formadas ya sea durante la maduración de la semilla o del novo (sintetizadas recientemente), las cuales son de dos tipos: a). Requieren de hidratación para activarse y b). Requieren de una hormona u otra enzima para activarse (Cardwell, 1984). Entre las hormonas endógenas que controlan la activación de las enzimas esta el ácido giberélico (GA), la citosina y el ácido absicico (ABA) (Cardwell, 1984 y Copeland, 1985). El embrión empieza a producir ácido giberélico, este juega un papel de suma importancia después de la hidratación de la semilla a través de su efecto de permeabilidad de la membrana y su influencia en la síntesis inicial de ATP (Khan, 1982 y Cardwell, 1984). 3) El catabolismo del almidón a glucosa, sacarosa y rafinosa, se lleva acabo a través de hidrólisis enzimática, estos azúcares son utilizados por el embrión como fuente de carbono (Copeland, 1985). Por otra parte, las proteínas son hidrolizadas por peptidasas y degradadas a aminoácidos, los cuales son transportados al embrión y reincorporados en nuevos

polipéptidos (Carwell, 1984 y Copeland, 1985). Los lípidos son también utilizados para lo cual son degradados a ácidos grasos y glicerol por la actividad de enzimas como la lipasa. Los ácidos grasos, pasan posteriormente por procesos de α y β oxidación. En la α oxidación, los ácidos grasos pierden un átomo de carbono y CO_2 , mientras que en la β oxidación, se forma Acetyl-CoA y energía en forma de ATP. El Acetyl-CoA entra posteriormente al ciclo de Krebs; 4) Las citocininas junto con el ácido giberélico, inducen la síntesis de otras enzimas que degradan a las proteínas y lípidos en compuestos mas simples; 5) El ABA por otra parte, en semillas con latencia de tipo fisiológico, es un inhibidor de la germinación que bloquea la síntesis de ADN y la transcripción de mRNA. Durante la germinación, el tejido de almacén (carbohidratos, lípidos y proteínas) es hidrolizado y degradado en compuestos mas simples (por las enzimas recién activadas) y de mayor movilidad que posteriormente serán translocados a los puntos de crecimiento del embrión (Copeland, 1985); 6) El proceso de germinación finaliza cuando las células del embrión se dividen activamente; para que emerja la radícula de la testa de la semilla; 7) Posteriormente, las células del endospermo y las del embrión, sintetizan auxinas las cuales primero inducen el alargamiento de los meristemas de la radícula y luego el alargamiento del tallo. Mediante la acción de las auxinas y las citocininas se induce el proceso de la diferenciación de los tejidos, así como el crecimiento direccional del talluelo hacia arriba y el de la raíz hacia abajo (Overbeek citado por Weaver, 1996).

En células de almacenamiento de todo tipo de semillas, las proteínas de reserva se depositan en estructuras delimitadas por membranas, a las que se

conoce como cuerpos proteínicos. Los cuerpos proteínicos no son proteína pura, sino que también contienen gran parte de reservas de fosfato, magnesio y calcio. El fosfato se esterifica a cada uno de los seis grupos hidroxilo de un azúcar alcohólico hexacarbonado conocido como mioinositol. El producto de esta esterificación se denomina ácido fitico, mientras que la liberación de iones H^+ de los grupos fosfato permite a los iones Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} y probablemente K^+ formar sales a las que en conjunto se conoce como fitina o, en ocasiones fitatos. La fitina casi siempre se une a proteínas en los cuerpos proteínicos. La imbibición de agua en una semilla seca desencadena una variedad de reacciones químicas que conducen a la germinación (protrusión de la radícula a través del tegumento seminal) y el subsecuente desarrollo de la plántula. Las proteínas de los cuerpos proteínicos se hidrolizan mediante proteinazas (proteasas) y peptidasas a aminoácidos y amidas. Las membranas que rodean a los cuerpos proteínicos en desintegración no se destruyen, en cambio, se fusionan para formar el tonoplasto alrededor de la vacuola central en crecimiento. Parte de los aminoácidos y amidas que se liberan durante la hidrólisis de proteínas en semillas se utiliza para formar nuevas proteínas especiales, ácidos nucleicos, etc. En las células en donde se efectúa la hidrólisis, aunque la mayor parte se transloca a través del floema hacia las células en crecimiento de raíz y partes aéreas. La liberación de fosfato y cationes procedentes de la fitina en cuerpos proteicos también ocurre durante la germinación (Salisbury y Ross, 1994).

Latencia de la Semilla

Rojas (1979) menciona que la vida latente permite que aunque la semilla este lista para proseguir su desarrollo, si el medio no es apropiado no lo hace, pero tampoco muere.

Se denomina letargo al fenómeno por el cual una semilla viable no germina cuando se coloca en un sustrato húmedo, aireado y a temperatura suficiente para sostener los procesos metabólicos que conducen a la germinación; salvo casos extremos, esta temperatura oscila entre 20°C y los 25°C (Besnier, 1989).

Ciertas semillas no germinan cuando recién son colectadas, existen dos interpretaciones al respecto una es que las semillas necesitan un periodo de reposo antes de germinar y el otro es que requieren de ciertos cambios que se denominan post-maduración que operan durante su aparente reposo, estas condiciones pueden ser imitadas o aceleradas por tratamientos adecuados (Gouvêa, 1983).

En las semillas de plantas silvestres pueden presentarse diferentes grados de letargo, debido a que están expuestas a condiciones adversas al medio ambiente mostrando una curva de distribución normal, en consecuencia inicialmente germinan pocas semillas, después de un periodo de no germinación y posteriormente el resto germinara súbitamente. Esto no ocurre en semillas colectadas bajo condiciones ideales (Rabenda, 1990).

Copeland y McDonald (1985) mencionan que la cubierta de la semilla tiene una fuerte influencia sobre la habilidad para germinar, debido a que puede establecer una barrera de permeabilidad e inhibir el intercambio gaseoso, así

como la difusión externa de los inhibidores endógenos de la germinación. Este efecto está relacionado con la presencia de depósitos altamente concentrados de suberina, lignina o cutina en los integumentos de las semillas, lo cual en cierta parte contribuyen a la conservación del letargo.

Fitorreguladores y Sustancias Hormonales

La utilización de estimulantes de la germinación en el tratamiento de semillas contribuye a mejorar la calidad de las mismas; ya que beneficia la velocidad y uniformidad de la germinación y emergencia asegurando una mayor densidad de plantas de mejor vigor, que permiten tolerancia a condiciones ambientales adversas e influyendo además en el crecimiento de la planta adulta (Bioenzymas, 1989).

Se considera que el crecimiento y el desarrollo son controlados por la acción de cinco grupos de hormonas: auxinas, giberelinas, citocininas, ácido abscísico y etileno (Polina, 1989), y estas hormonas ejercen un efecto poderoso en algún aspecto de crecimiento y desarrollo de las plantas (Salisbury y Ross, 1994; Fosket, 1994; Black and Bucovac, 1996). Así, las auxinas controlan la formación y el crecimiento de la raíz; las giberelinas regulan la síntesis de proteínas y alargamiento del tallo; las citocininas, la diferenciación de órganos; el etileno la maduración de los frutos y el ácido abscísico el bloqueo de la germinación (Riley, 1997).

Los fitorreguladores se definen como sustancias reguladoras del crecimiento vegetal que son sintetizadas en el interior de una planta y que a bajas concentraciones pueden activar, inhibir o modificar cualitativamente el crecimiento, ejerciendo normalmente esta acción en un lugar distinto al origen (Hill, 1977).

Giberelinas

Hay muchas sustancias químicas estrechamente relacionadas en la familia de las hormonas de plantas, llamadas giberelinas. Muchas especies de plantas contienen giberelinas diferentes. Por otro lado, sólo una giberelina posee la actividad biológica significativa en relación a la germinación de las semillas (GA₃).

Su Naturaleza

Las giberelinas son clasificadas a partir de su estructura, así como de su función. Todas las giberelinas se derivan del esqueleto gibane y de compuestos ácidos, por consiguiente se denominan ácidos giberélicos (GA), con un subíndice diferente para distinguirlas entre ellas. El GA₃ se ha llamado el ácido giberélico históricamente, pero el término también se usa a menudo para describir todas las giberelinas. El GA se encuentra extendido tanto en las plantas sin flores (gimnospermas) como con flores (angiospermas), así también en los helechos. Se han aislado giberelinas en plantas inferiores como los musgos y algas, en dos especies de hongos, y más recientemente en dos especies bacterianas. Se han identificado más de 90 GA's de las cuales no todas es muy probable su importancia en la planta (Mauseth, 1991; Salisbury y Ross, 1994).

En la germinación las giberelinas actúan como un sustituto de bajas temperaturas, días largos o luz roja. Uno de los efectos de las giberelinas es estimular la elongación celular de manera que la radícula puede empujar a través del endospermo, la cubierta seminal o la cubierta del fruto que restringe su crecimiento (Salisbury y Ross, 1994).

Funciones de las Giberelinas

Diversos investigadores en la materia (Davies, 1995; Mauseth, 1991; Riley, 1997; Salisbury y Ross, 1994), mencionan que las giberelinas activas muestran muchos efectos fisiológicos; cada efecto depende del tipo de giberelina presente así como de la especie. Algunos de los procesos fisiológicos estimulados por las giberelinas se indican a continuación:

- Son eficaces para romper la latencia, al provocar una germinación rápida.
- Estimula el alargamiento del tallo, debido a que induce la división y alargamiento celular.
- Induce a la floración temprana en plantas jóvenes.
- Estimula la producción de la enzima α -amilasa para la movilización de reservas de la semilla en la germinación de granos de cereales.
- Induce la masculinidad en flores (la expresión del sexo).
- Puede causar la partenocarpia en frutos.
- Puede retardar la senescencia en las hojas y frutas cítricas.

Las giberelinas parecen transportarse fácilmente en el embrión hidratado por ser hidrosolubles y atravesar fácilmente las membranas celulares; inducen la

acción de las enzimas hidrolíticas existentes en la semilla y su nueva síntesis, intervienen en el metabolismo de la glucosa, en la respiración y en la síntesis de nuevas proteínas, incluyendo las proteínas enzimáticas (Besnier, 1989).

Las giberelinas han sido utilizadas como promotoras de la germinación en diferentes especies de cactáceas, las concentraciones varían de 0.1 a 100 ppm (García, 1993 y Peña, 1995).

Germinación *in vitro*

Una de las ventajas de utilizar la técnica *in vitro* es obtener material libre de patógenos (Heras, 1990 y Peña-Yáñez, 1995). La germinación de cactus puede llevarse a cabo *in vitro* en medios suplementados con sales inorgánicas, compuestos orgánicos, vitaminas, reguladores de crecimiento y agentes gelificantes.

En la germinación *in vitro* se tiene que semillas germinadas asépticamente en medio MS (Murashige-Skoog, 1962), son consideradas como la fuente de explantes mas adecuadas en la micropropagación, debido a que las plántulas obtenidas no presentan problemas de contaminación posterior (Comparan y Luna, 1994; Izquierdo y Palomino, 1996).

Villavicencio *et al.* (2000) evaluaron seis tratamientos 1) MS al 100% y 50 %, y el medio MAAS (con agua, 0.6% agar y 3% de sacarosa), todos con dos niveles de ácido giberélico (0 y 20 mg/L) para promover la germinación *in vitro* en semillas de *Astrophytum myriostigma*. Aun cuando no hubo diferencias

estadísticas entre ellos, se logró determinar que a los 42 días de incubación que el mejor medio para la germinación es con 1/2X de concentración de MS-macroelementos del cual se obtuvo un 67 % de germinación en plántulas de mayor altura y calidad.

Ibáñez *et al.* (1998) trabajaron con las especies *Stenocereus queretaroensis* (pitayo) y *Acanthocereus occidentalis* y observaron el crecimiento y la respuesta morfogénica "*in vitro*" a diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento. Se trabajó con semillas las cuales se desinfectaron y se sembraron en medio Murashige y Skoog (1962). Obteniendo un alto porcentaje de germinación entre los 40 y 60 días. Posteriormente se subcultivaron utilizando un medio MS (1962) adicionado con diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento para brotación, BAP (bencilamino purina) y K (cinetina), siendo los tratamientos: T1= BAP 1mg/L y K 0 mg/L, T2= BAP 2 mg/L y K 1 mg/L, y T3= BAP 3 mg/L y K 2 mg/L para *S. queretaroensis*, y BAP 2 mg/L y K 1 mg/L para *A. Occidentalis*. Se mantuvieron en condiciones de temperatura y luz controlada. Los resultados indicaron que *S. queretaroensis* y *A. occidentalis* son susceptible de cultivarse "*in vitro*" para su germinación en el medio MS (1962) adicionado con BAP 2 mg/L y K 1 mg/L, mientras que para la formación de brotes y crecimiento de los mismos el mejor tratamiento resultó ser el de BAP 3.0 y K 2 mg/L para *S. queretaroensis* y BAP 2.0 y K 1 mg/L para *A. occidentalis*.

Heras (1990) llevó a cabo un estudio estadístico de la germinación de diversas especies de cactáceas (*Epithelantha micromeris*, *Neolloydia lophophoroides* y *Aztekium nitter*) en medio MS, variando la concentración de los

macroelementos a 1/4X, 1/2X y 1X, encontrando que las semillas de estas especies pueden ser germinadas in vitro, cuando se utiliza una menor concentración (1/4X y 1/2X) de los MS-macroelementos obteniendo una germinación hasta de un 100 %.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización Geográfica del Sitio Experimental

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología del Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” (UAAAN), en Buenavista Saltillo, Coahuila; localizada entre los paralelos 25°22' de latitud norte y los meridianos 101°103' de longitud oeste y a una altura de 1743 msnm.



Germinación

Germinación *in vitro*, mediante un diseño completamente al azar se evaluaron 4 tratamientos con 10 repeticiones por especie: 1. *Astrophytum myriostigma*, 2. *Epithelantha micromeris*, 3. *Ferocactus stainesii* (var. *pringlei*) y 4. *Normanbokea valdeziana*; los tratamientos evaluados son:

T1 = MS 100% (Testigo)

T2 = MS 100% + 0.5 mgL⁻¹ GA₃

T3 = MS 100% + 1 mgL⁻¹ GA₃

T4 = MS 100% + 1.5 mgL⁻¹ GA₃

Esterilización de la semilla

Los medios fueron esterilizados a 121°C durante 20 minutos. Las semillas se establecieron en tubos de ensayo (125 x 15 mm) adicionados con 25 ml de medio de cultivo. Previamente al cultivo, las semillas se colocaron por separado en un costalito de media nylon y se desinfectaron en tres diferentes soluciones: 1. Agua + jabón líquido antibacterial, 2. Alcohol al 30% y 3. Cloro al 25% + 2 gotas de tween 20. La duración de cada lavado fue de 3 minutos, haciendo dos enjuagues con agua destilada- estéril después de cada inmersión.

En cada tubo de ensaye se sembró una semilla y cada uno de ellos se consideró como una unidad experimental.

Las semillas de las cuatro especies con el tratamiento respectivo, se mantuvieron en una cámara de crecimiento a una temperatura 18°C / 25°C noche / día respectivamente, un fotoperíodo de 14 horas luz.

Variables del análisis

1. Días a Germinación por plántula.
2. Longitud de radícula (mm) desde su aparición y cada 5 días.
3. Longitud del hipocotilo (mm) cada 5 días después de su emergencia.
4. Número de raíces.
5. Número de raíces secundarias.

Fechas de Evaluación

Octubre: F1 = 13, F2 = 18, F3 = 23, F4 = 28.

Noviembre: F5 = 3, F6 = 8, F7 = 13, F8 = 18, F9 = 23, F10 = 28.

Diciembre: F11 = 2, F12 = 7, F13 = 12.

Análisis estadístico

Los datos registrados en el experimento se analizaron utilizando el paquete estadístico SAS® versión 6.2, 1989-1996, seleccionando los tratamientos significativos mediante la prueba de Tukey ($\alpha \leq 0.05$).

Diseño experimental

El Modelo Lineal para un Diseño Completamente al azar:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$$

Y_{ij} = Valor de la característica en estudio

μ = Media general

t_i = Efecto del tratamiento i

e_{ij} = Error

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la realización del experimento se tomaron los datos del comportamiento de cinco variables que son días a germinación, longitud de raíz, longitud de tallo, número de raíces y raíces secundarias; a continuación se describe su comportamiento para cada especie evaluada.

Normanbokea valdeziana

En relación al análisis de varianza no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos para la variable días a germinación (DAG) observando un coeficiente de variación alto (57.5 %), debido principalmente a la variación en fechas observada en esta variable (Cuadro 1).

Cuadro 1. Análisis de varianza para la variable días a germinación en *Normanbokea valdeziana*.

F.V	G.L	DAG (Número)
Tratamiento	3	104.111 _{NS}
Error	22	199.133
C.V. = 57.5 %		

En el Cuadro 2 se presenta la comparación de medias para la especie *Normanbokea valdeziana*, se puede observar que el menor tiempo a germinación con un promedio de 16 días se obtuvo adicionando un 1 mgL^{-1} de GA_3 .

También se observa que las semillas en el tratamiento sin ácido giberélico y adicionando 1.5 mgL^{-1} de GA_3 toman el mismo número de días para germinar con un promedio de 27. Adicionando 0.5 mgL^{-1} de GA_3 se obtiene un promedio de 21 días. Sin embargo, estadísticamente no se observaron diferencias entre tratamientos.

Cuadro 2. Comparación de medias para DAG evaluada en *Normanbokea valdeziana*.

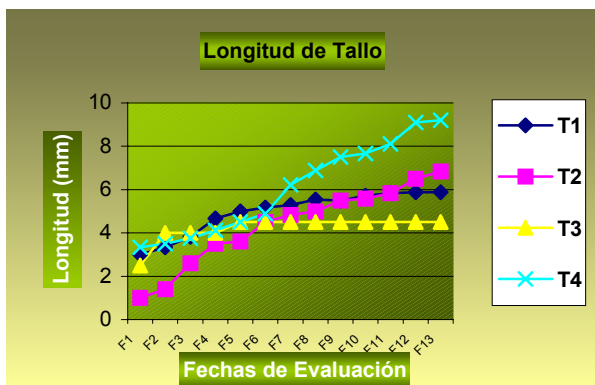
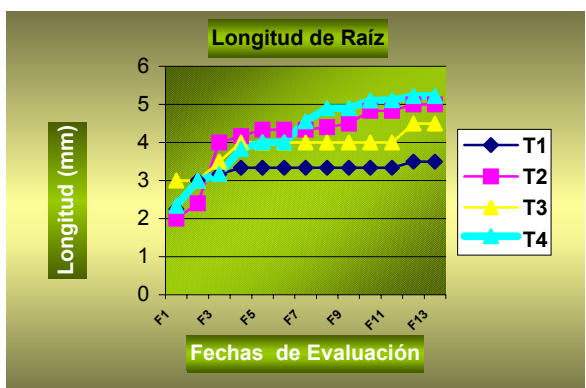
Tratamiento		DAG (Número de Días)
1	MS 100 %	27 a
2	MS 100 % + 0.5 mgL^{-1} GA_3	21 a
3	MS 100 % + 1 mgL^{-1} GA_3	16 a
4	MS 100 % + 1.5 mgL^{-1} GA_3	27 a
Tukey		26

Valores con la misma letra son estadísticamente iguales Tukey ($\alpha \leq 0.05$).

Observando el comportamiento de la variable longitud de raíz al estímulo de diferentes concentraciones de ácido giberélico (Gráfica 1), podemos ver que la mayor longitud la obtuvo cuando se adicionó 1.5 mgL^{-1} de GA_3 , con lo cual se alcanzó una longitud total de 5.22 mm, la elongación de la raíz fue constante, salvo los 20 a 30 días después de la siembra; período en el que no hubo cambios en la longitud. Al aplicar 0.5 mgL^{-1} de GA_3 la longitud alcanzó hasta 5 mm,

mientras que con $1 \text{ mgL}^{-1} \text{ GA}_3$ se obtuvo 4.5 mm, la menor se presentó en el medio sin ácido giberélico (testigo) con solo 3.5 mm. Comparando las longitudes de mayor a menor observamos el efecto de esta hormona, la diferencia en longitudes fue de 1.72 mm que representa el 32.98 %.

En la Gráfica 2 se aprecia que la mayor longitud de tallo se presentó con 1.5 mgL^{-1} de GA_3 con un máximo de 9.2 mm; mientras que el de menor longitud se obtuvo con el medio que contenía 1 mgL^{-1} de GA_3 que fue superado por el testigo.



Gráfica 1. Longitud de raíz por fecha de evaluación en *Normanbokea valdeziana*.

Gráfica 2. Longitud de tallo por fecha de evaluación en *Normanbokea valdeziana*.

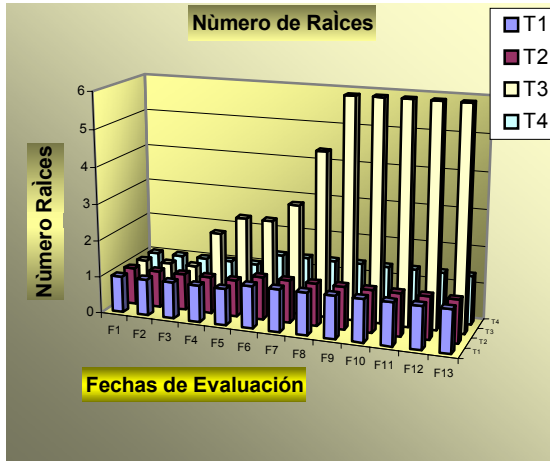
Normanbokea valdeziana.

Normanbokea valdeziana.

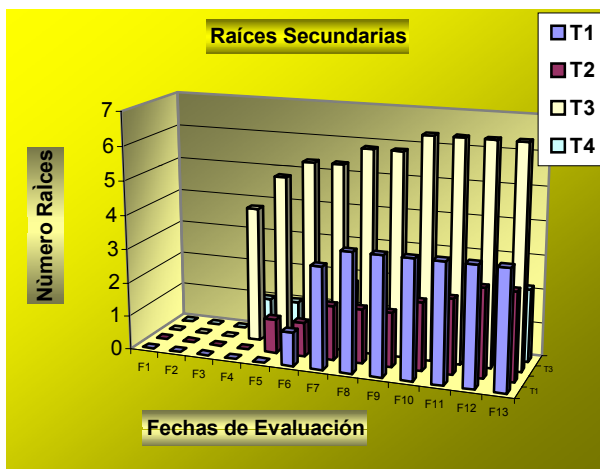
En la Gráfica 3 se observa que hasta la Fecha 4 de evaluación no se presentó cambio respecto al número de raíces para los cuatro tratamientos, habiendo

diferencias a partir de la Fecha 5, el mayor número de raíces se obtuvo en el medio con 1 mgL^{-1} de GA_3 donde se contabilizaron 6 raíces. Se encontraron dos concentraciones que se comportaron de igual manera contando únicamente con 1.6 raíces por plántula (T1 y T2), por otra parte en el T3 (medio 1.5 mgL^{-1} de GA_3) se observaron 1.33 raíces.

El tratamiento que más estimuló formación de raíces secundarias fue el medio adicionado con 1 mgL^{-1} de GA_3 , donde se encontraron 6.5 raíces secundarias. En semillas sin adición de ácido giberélico se encontró 3.5 raíces, en cambio cuando se bajo la concentración a 0.5 mgL^{-1} de GA_3 se encontraron 2.6 raíces y el de menor número fue el de mayor concentración 1.5 mgL^{-1} de GA_3 con 2.1 raíces (Gráfica 4).



Gráfica 3. Número de raíces por fecha de evaluación en *Normanbokea valdeziana*.



Gráfica 4. Número de raíces secundarias por fecha de evaluación en *Normanbokea valdeziana*.

***Ferocactus stainesii* (var. *pringlei*)**

En lo que respecta a la especie *Ferocactus stainesii* (var. *pringlei*), no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. El coeficiente de variación fue de 46.8 %, debido a la variación observada en cuanto al número de días para germinar (Cuadro 3).

Cuadro 3. Análisis de varianza para la variable días a germinación en *Ferocactus*

stainesii (var. *pringlei*).

F.V	G.L	DAG (Número)
Tratamiento	3	113.287 ^{NS}
Error	32	73.691
C.V. = 46.8 %		

De acuerdo a la comparación de medias para la variable DAG en *Ferocactus stainesii* (var. *pringlei*) se presentó germinación a los 15 días, en una concentración de 1.5 mgL⁻¹ GA₃, seguida por la concentración de 0.5 mgL⁻¹ de GA₃ con un promedio de 18 días (Cuadro 4). El tiempo mayor en días, se observó en el T1, en donde se encontró un promedio de 24 días a germinación.

Cuadro 4. Comparación de medias para DAG evaluada en *Ferocactus stainesii* (var. *pringlei*).

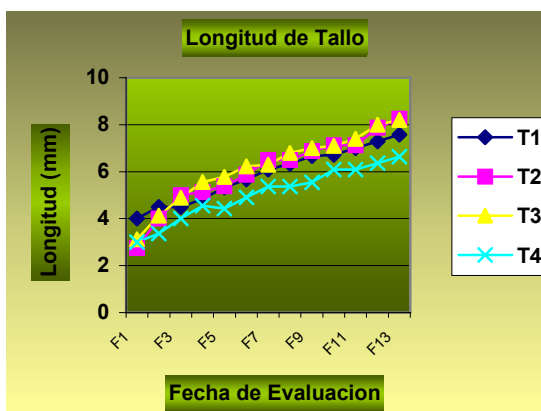
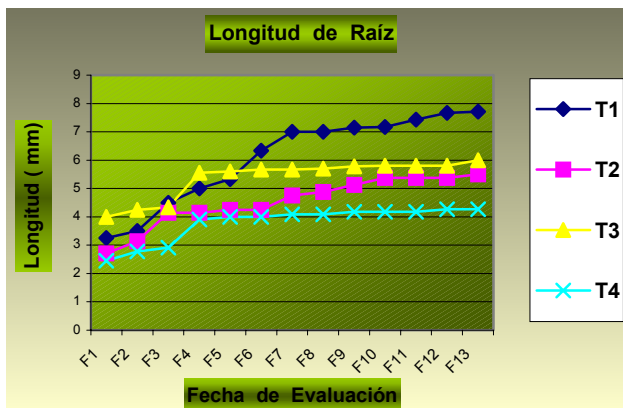
Tratamiento	DAG (Número de Días)
1 MS 100 %	24 a
2 MS 100 % + 0.5 mgL ⁻¹ GA ₃	18 a
3 MS 100 % + 1 mgL ⁻¹ GA ₃	19 a
4 MS 100 % + 1.5 mgL ⁻¹ GA ₃	15 a
Tukey	11

Valores con la misma letra son estadísticamente iguales Tukey ($\alpha \leq$

0.05).

En la variable de longitud de raíz para la especie *Ferocactus stainesii* (var. *pringlei*), alcanzó mayor valor el testigo (T1 = MS 100 %) en comparación con el resto de los tratamientos que incluyeron GA₃ (Gráfica 5). Lo anterior deja ver el efecto inhibitorio del GA₃ en la elongación de las raíces.

De acuerdo con la longitud de tallo T2 (MS 100 % + 0.5 mgL⁻¹ GA₃) presento mayor elongación, pero con poca diferencia respecto al resto de los tratamientos (Gráfica 6).

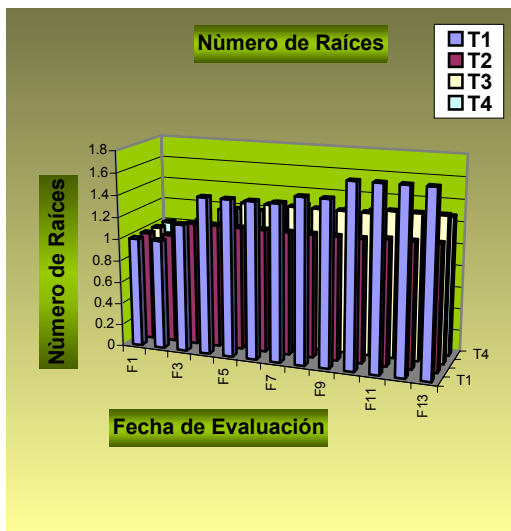


Gráfica 5. Longitud de raíz por fecha de evaluación en *Ferocactus Stainesii* (var. *pringlei*).

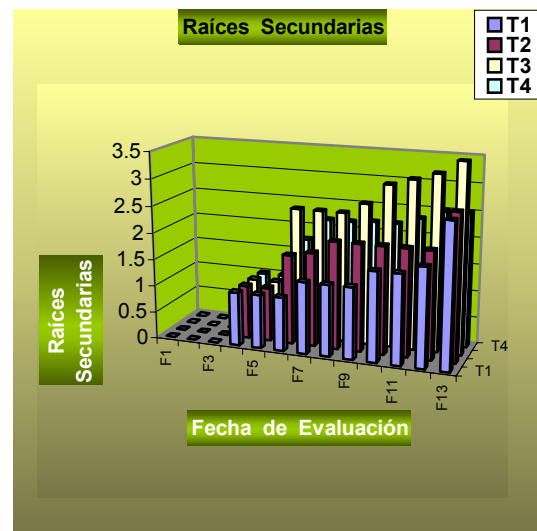
Gráfica 6. Longitud de tallo por fecha de evaluación en *Ferocactus stainesii* (var.. *pringlei*).

En la variable de número de raíces, el tratamiento testigo (T1 = MS 100 %) fue el que presentó mayor número, lo cual deja ver que el ácido giberélico en esa especie es un inhibidor en el desarrollo de raíz (Gráfica 7). Sin embargo, en el desarrollo de las raíces secundarias el T3 (MS 100 % + 1 mgL⁻¹ GA₃) presentó un mayor número seguido por el T1 (MS 100 % + 0.5 mgL⁻¹ GA₃) (Gráfica 8).

De acuerdo a los resultados, se observa que un mejor desarrollo de raíces primarias se presenta en el medio sin GA₃, sin embargo para número de raíces secundarias el T3 estimuló su desarrollo.



Gráfica 7. Longitud de raíz por fecha de Evaluación en *Ferocactus stainesii* (var. *pringlei*).



Gráfica 8. Longitud de tallo por fecha de evaluación en *Ferocactus stainesii* (var. *pringlei*).

Astrophytum myriostigma

En el análisis de varianza podemos observar que no hay diferencias significativas entre los tratamientos. El coeficiente de variación fue de 18.2 % lo cual deja ver que las semillas germinan en un periodo corto (Cuadro 5).

Cuadro 5. Análisis de varianza para la variable días a germinación en *Astrophytum myriostigma*.

F.V	G.L	DAG (Número)
Tratamiento	3	58.050 _{NS}
Error	11	35.404
C.V. = 18.2 %		

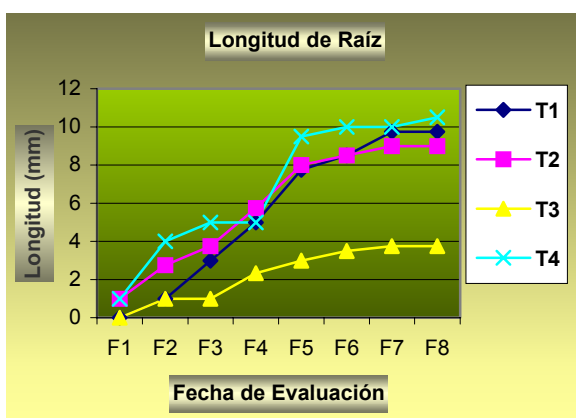
En la comparación de medias, todos los tratamientos resultaron estadísticamente iguales, sin embargo se puede observar que los tratamientos 2 y 4 presentaron el menor tiempo a germinación. Los tratamientos 1 y 3 obtuvieron 35 y 36 días a germinación, respectivamente (Cuadro 6).

Cuadro 6. Comparación de medias para DAG evaluada en *Astrophytum myriostigma*.

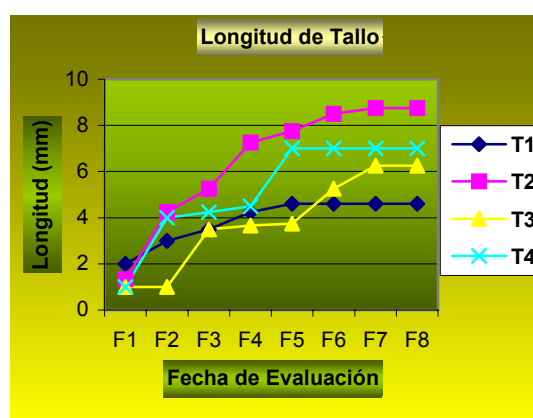
Tratamiento	DAG (Número de Días)
1 MS 100 %	35 a
2 MS 100 % + 0.5 mgL ⁻¹ GA ₃	29 a
3 MS 100 % + 1 mgL ⁻¹ GA ₃	36 a
4 MS 100 % + 1.5 mgL ⁻¹ GA ₃	29 a

Valores con la misma letra son estadísticamente iguales Tukey ($\alpha \leq 0.05$).

En la Gráfica 9 se puede observar el comportamiento de la variable longitud de raíz en los 4 tratamientos, se obtuvo 10.5 mm en el medio adicionado con 1.5 mgL⁻¹ de GA₃ (T3), el cual fue el mayor; en segunda posición se observa al medio sin ácido giberélico (T1) con una longitud de raíz de 9.75 mm; en el tratamiento con 0.5 mgL⁻¹ GA₃ las raíces alcanzaron 9 mm y en el T2 con 1.0 mgL⁻¹ de GA₃ las raíces solo midieron 3.75 mm en promedio. Para longitud del tallo se puede apreciar en la Gráfica 10, que mayor elongación se presentó con 0.5 mgL⁻¹ de GA₃ alcanzando 8.75 mm, seguido de T3 con 1.5 mgL⁻¹ de GA₃ presentando una longitud de 7 mm. Con 1.0 mgL⁻¹ de GA₃ la longitud promedio del tallo fue de 6.25 mm y por último el de menor longitud se observó en el medio que no contenía ácido giberélico T1 con 4.6 mm.

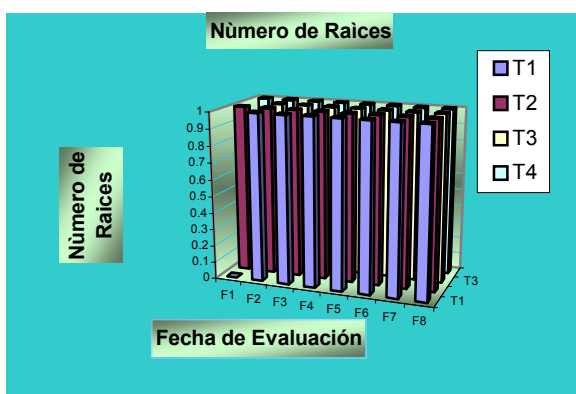


Gráfica 9. Longitud de raíz por fecha de evaluación en *Astrophytum myriostigma*.

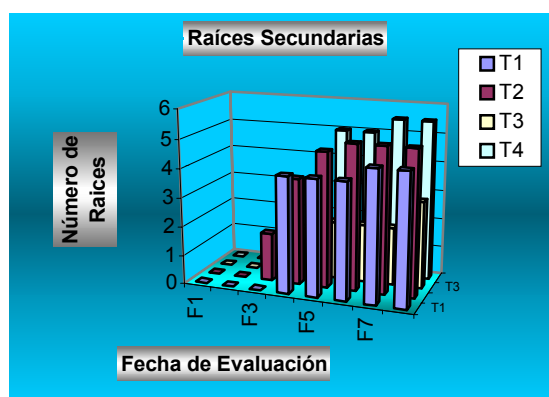


Gráfica 10. Longitud de tallo por fecha de evaluación en *Astrophytum myriostigma*.

En la variable número de raíces (Gráfica11) podemos observar que no hubo diferencias entre tratamientos, todos presentaron un número similar de raíces. En relación con número de raíces secundarias se obtuvo mejor desarrollo con el tratamiento 4 ($1.5 \text{ mgL}^{-1} \text{ GA}_3$) en promedio con 5.5 raíces, seguido del tratamiento con $0.5 \text{ mgL}^{-1} \text{ GA}_3$ con 5 raíces, el medio sin ácido giberélico desarrolló 4.5 raíces y en último lugar fue el tratamiento 3 ($1 \text{ mgL}^{-1} \text{ GA}_3$) con un promedio de 3 raíces el cual fue superado por el testigo (Gráfica 12).



Gráfica 11. Número de raíces por fecha de evaluación en *Astrophytum myriostigma*.



Gráfica 12. Raíces secundarias por fecha de evaluación en *Astrophytum myriostigma*.

Epithelantha micromeris

En el Cuadro 7 se puede observar el análisis de varianza para la variable DAG en *Epithelantha micromeris* en el cual no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. El coeficiente de variación es aceptable con 20.8 %.

Cuadro 7. Análisis de varianza para la variable días a germinación en *Epithelantha micromeris*.

F.V	G.L	DAG (Número)
Tratamiento	3	219.805 NS

Error	18	86.004
C.V. = 20.8 %		

En el Cuadro 8 se muestran las medias para DAG, dando como resultado que en el tratamiento 4 las semillas germinaron en el menor tiempo (39 días). Sin embargo en T1 se observó un promedio de 55 días en promedio para germinación.

Cuadro 8. Comparación de medias para DAG evaluada en *Epithelantha micromeris*.

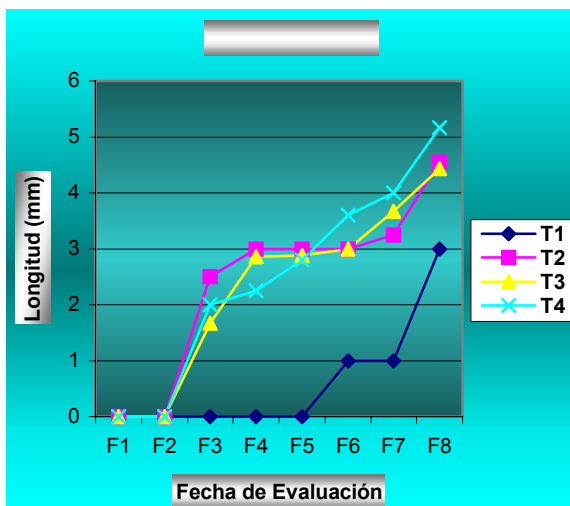
Tratamiento	DAG (Número de Días)
1 MS 100 %	55 a
2 MS 100 % + 0.5 mgL ⁻¹ GA ₃	41 a
3 MS 100 % + 1 mgL ⁻¹ GA ₃	45 a
4 MS 100 % + 1.5 mgL ⁻¹ GA ₃	39 a
Tukey	16

Valores con la misma letra son estadísticamente iguales Tukey ($\alpha \leq 0.05$).

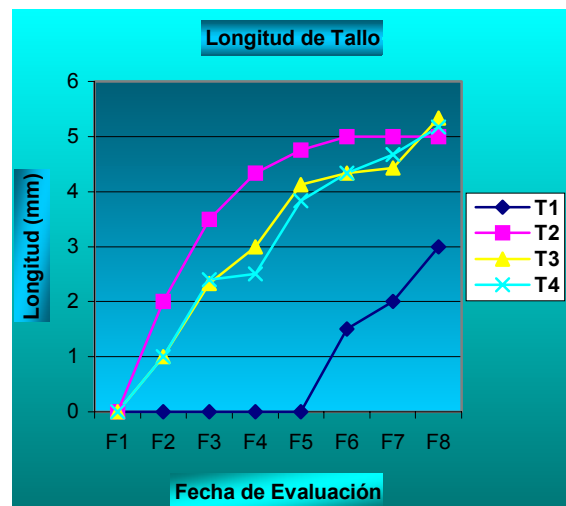
Para esta variable la mejor respuesta se obtuvo adicionando 1.5 mgL⁻¹ de GA₃ donde el promedio de la longitud de raíz alcanzó 5.17 mm. En el tratamiento 2 en que se adicionó 0.5 mgL⁻¹ de GA₃ la longitud de raíz fue de 4.5 mm. Para el tratamiento 3 (1 mgL⁻¹ de GA₃), la longitud de raíz fue de 4.42 mm y para el testigo (sin GA₃) se obtuvo una longitud de raíz de 3 mm. Se hace la observación que para el testigo la raíz manifestó un cambio en su

elongamiento a partir de la Fecha 6 en donde se disparó el crecimiento, en cambio en el resto de los tratamientos se disparó el crecimiento a partir de la Fecha 3 (Gráfica 13).

En la variable longitud del tallo (Gráfica 14) en plántulas con 1 mgL^{-1} de GA_3 se obtuvo una elongación del tallo de 5.33 mm, seguido del tratamiento 4 (1.5 mgL^{-1} de GA_3) con un promedio de 5.16 mm; en el tratamiento 2 (0.5 mgL^{-1} de GA_3) se registró 5 mm de longitud y finalmente el tratamiento sin la adición de GA_3 (T1) solo alcanzó 3 mm de longitud del tallo; en este tratamiento el tallo inicio su desarrollo hasta la fecha 5.

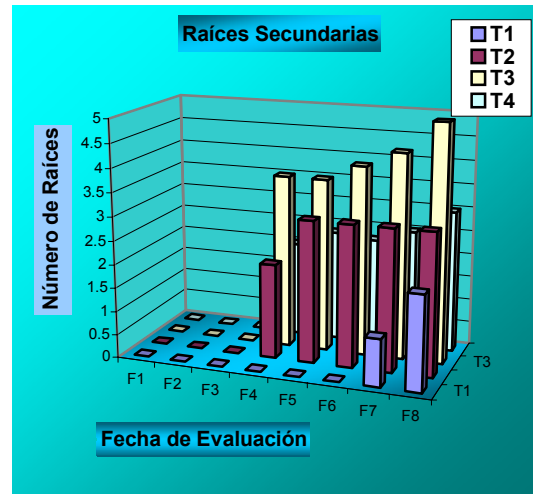
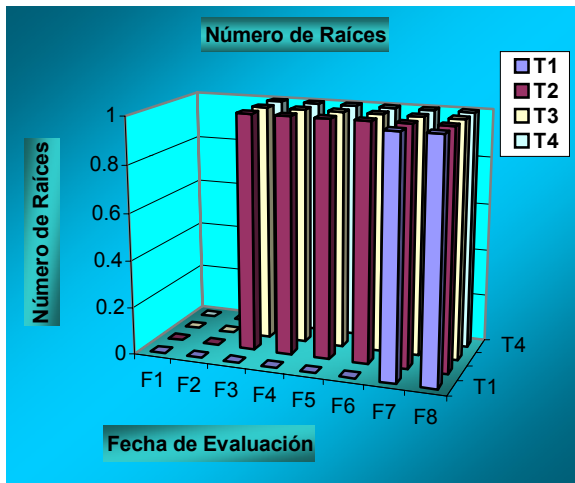


Gráfica 13. Longitud de raíz por fecha de evaluación en *Epithelantha micromeris*.



Gráfica 14. Longitud de tallo por fecha de evaluación en *Epithelantha micromeris*.

En la variable número raíces, se observa que no hubo diferencias entre tratamientos respecto al testigo (T1), pues solo se desarrolló una raíz. Sin embargo el tratamiento sin ácido giberélico (T1) generó raíces posterior a la Fecha 6, mientras que para el resto de los tratamientos la raíz inicio desarrollo en la Fecha 3 (a los 15 días) (Gráfica 15).



Gráfica 15. Número de raíces por fecha de evaluación en

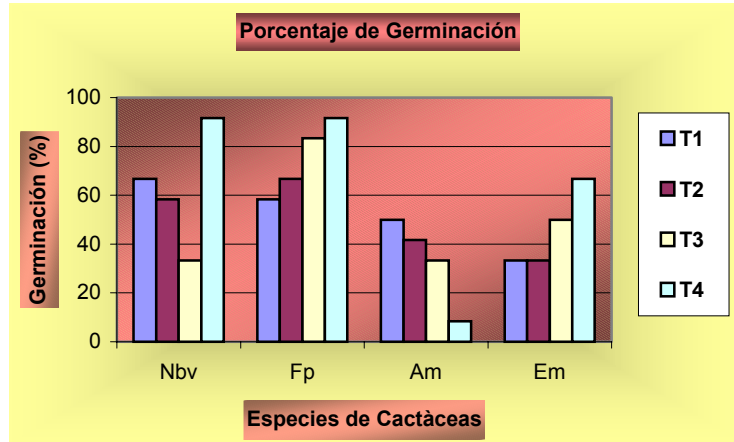
Epithelantha micromeris.

Gráfica 16. Raíces secundarias por fecha de evaluación

Epithelantha micromeris.

En la variable raíces secundarias (Gráfica 16) el mayor número se obtuvo en el tratamiento en donde se les adicionó 1 mgL^{-1} de GA_3 con 5 raíces, para los tratamientos con 1.5 y 0.5 mgL^{-1} de GA_3 se contabilizaron un total de 3 raíces seguido por el tratamiento 2 (1 mgL^{-1} de GA_3). El menor número de raíces se obtuvo en el T1 (sin ácido giberélico) con 2 raíces únicamente, las cuales empezaron a desarrollarse a partir de los 35 días (Fecha 7).

El Efecto de los Tratamientos en el Porcentaje de Germinación



Grafica 17. Comparación del por ciento de Germinación en las cuatro especies de Cactáceas con sus respectivos Tratamientos. Nbv = *Normanbokea valdeziana*; Fp = *Ferocactus stainesii* (var. *pringlei*); Am = *Astrophytum myriostigma* y Em = *Epithelantha micromeris*.

El análisis de los datos indica que la aplicación de GA₃, tiene un efecto en el porcentaje de germinación, dicho porcentaje fue diferente en cada especie; presentando el comportamiento que a continuación se describe:

Normanbokea valdeziana: el porcentaje de germinación sin la adición de giberelinas (GA₃) fue del 66.6 %, cuando se adicionó 0.5 mgL⁻¹ GA₃ la germinación disminuyó a un 58.3 % y al aplicar 1 mgL⁻¹ de GA₃ el porcentaje cayó a un 33.3 %, sin embargo con 1.5 mgL⁻¹ de GA₃ la germinación incrementó notablemente hasta un 91.66 %.

Ferocactus stainesii (var. *pringlei*): esta especie presentó un 58.33 % de germinación sin la aplicación de giberelinas (GA₃), cuando se adicionó 0.5 mgL⁻¹ de GA₃ la germinación fue de 66.6 % , al adicionar 1mgL⁻¹ de GA₃ se obtuvo un 83.3 % de germinación, por último la adición de 1.5 mgL⁻¹ de GA₃ la germinación se incrementó hasta 91.6 %.

Astrophytum myriostigma: este material mostró un comportamiento muy diferente, las semillas en el T1 (sin giberelinas) germinaron en un 50 %, las que se les adicionó 0.5 mgL^{-1} de GA_3 germinaron en un 41.6 %, en las que estuvieron en una concentración de 1 mgL^{-1} de GA_3 germinó el 33.3% y las que fueron colocadas en el medio con 1.5 mgL^{-1} de GA_3 tuvieron un porcentaje de germinación de solo 8.33 %.

Epithelantha micromeris: este germoplasma mostró un comportamiento similar con 33.3 % de germinación para semillas en T1 y T2. Cuando se adicionó 1 mgL^{-1} de GA_3 , la germinación se incrementó a 50 % y en último para 1.5 mgL^{-1} de GA_3 en presentó el 66 %.

CONCLUSIONES

Normanbokea valdeziana: Mayor por ciento de germinación se obtuvo con el tratamiento 4 (MS 100 % + 1.5 mgL⁻¹ de GA₃) con 91.66 %, sin embargo se alargó el periodo de germinación a 27 días. Por otra parte, con el tratamiento 2 se redujo el porcentaje de germinación a 33 %, en un período de 16 días.

Ferocactus stainesii (Var. *pringlei*). El tratamiento (MS 100 % + 1.5 mgL⁻¹ de GA₃) mejoró el por ciento de germinación ya que se incrementó a 91.6 %, en comparación con el testigo en donde germinó el 58.3 % de las semillas. En T4 también se redujo el número de días a germinación a 15.

Astrophytum myriostigma: En esta especie la adición al medio de GA₃ presentó un efecto negativo ya que inhibió el proceso de germinación. Mejor resultado se obtuvo en el testigo con 50 % de germinación. Para días a germinación, en los tratamientos 2 y 4 se redujo a 29.

Epithelantha micromeris: Mejores resultados para porcentaje de germinación se obtuvieron con T4 (66 %), así como el menor número de días a germinación (39).

En general, el tratamiento 4 mejoró el porcentaje de germinación en *Normanbokea valdeziana*, *Ferocactus stainesii* (var. *pringlei*) y *Epithelantha micromeris*.

RESUMEN

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología del Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Los objetivos de la investigación fueron: Asegurar un alto porcentaje de germinación y acelerar el proceso, en semillas de cuatro especies de cactáceas (*Normanbokea valdeziana*, *Ferocactus stainesii* var. *pringlei*, *Astrophyum myriostigma* y *Epithelantha micromeris*) a través del cultivo *in vitro*, aportando al medio de cultivo nutrientes y GA_3 en una concentración óptima.

Para evaluar la germinación *in vitro*, mediante un diseño completamente al azar se evaluaron 4 tratamientos con 10 repeticiones por especie. Los tratamientos evaluados son: T1 = MS 100% (Testigo), T2 = MS 100% + 0.5 mgL^{-1} GA_3 , T3 = MS 100% + 1 mgL^{-1} GA_3 , T4 = MS 100% + 1.5 mgL^{-1} GA_3 . Las variables evaluadas son: 1. Días a germinación (DAG), 2. Longitud de radícula (mm) desde su aparición y cada 5 días, 3. Longitud del hipocotilo (mm) cada 5 días después de su emergencia 4. Número de raíces y 5. Número de raíces secundarias. Los datos registrados en el experimento se analizaron utilizando el paquete estadístico SAS® versión 6.2.

En general, el tratamiento 4 fue el mejor en cuanto a por ciento de germinación en *Normanbokea valdeziana* (91.66 %), *Ferocactus stainesii* (var. *pringlei*) (91.6 %) y *Epithelantha micromeris* (66 %) y en lo que respecta a *Astrophyum myriostigma* el mejor resultado se obtuvo en el testigo con 50 % de germinación.

LITERATURA CITADA

- Association of Official Seed Analysts (AOSA). 1983. Seed vigor testing handbook, Contribution, N° 32 to the Handbook on Seed Testing. USA.
- Besnier, R. F. 1989. Semillas Biología y Tecnología. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España. 637pp
- Bioenzimas. 1989. Suplemento especial. 1979-1989. Saltillo, Coahuila, México. Pp .
- Black, B. and Bukovac, M. J. 1996. Plant growth regulator application technology, uptake and action. pp. 40-50, In: P. K. Andrews; G. A. Lang; K. Millinix (eds). Tree Fruit Physiology: Growth and Development. Good Fruit Grower. Washington, USA.
- Bravo H y Scheinvar L. 1995. El interesante Mundo de las cactáceas. UNAM. México. pp. 130-134.
- Bravo, H y H. Sánchez-Mejorada. 1991. Las cactáceas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. México D. F. 2° ed. Vol. 1. 755pp.
- Bravo, H. y H. Sánchez-Mejorado. 1978. Las cactáceas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F.
- Copeland, L. O. and M.B. McDonald. 1985. Principles of seed science and technology. 2da. ed. Burgess Publishing Company. USA.
- Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification on flowering plants. Columbia Univ. Press. 1262 p.
- Davies, P. J. 1995. Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology. Dordrecht: Kluwer. pp. 10 – 25.
- García, R. H. 1993. Estimulación de la germinación en cinco especies de cactáceas consideradas en peligro de extinción. Tesis de Licenciatura. Instituto de ciencia y Cultura, A. C. División de ciencias Biológicas, Saltillo Coahuila, México. 60 pp.
- Glass E. Charles. 1998. Guía para la identificación de cactáceas amenazadas de México. Fideicomiso para la Biodiversidad. México, D. F.
- Gouvêa, L. 1983. A germinação das sementes. Secretaria-Gral de Organização das Escolas Americanas, Washinton, D.C. 722 pp.

- Hartmann, H y D. E. Kester. 1995. Propagación de plantas. Ed. Continental. México. pp. 130-165.
- Heras, C. M. G. 1990. Germinación y cultivos de tejidos de especies cactáceas in vitro. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México. 88 pp.
- Hill, T. A. 1997. Hormonas reguladores del crecimiento vegetal. Ediciones Omega. Barcelona, España. 94 pp.
- Ibáñez R. Páez K. R. y Fregoso N. 1998. Las pitayas también tienen su historia. CNCA.
- Izquierdo J, G. Palomino. 1996. Técnicas convencionales y biotecnológicas para la propagación de plantas en zonas áridas oficina regional la FAO para América Latina y el caribe. Santiago - Chile.
- Mauseth, J. D. 1991. Botany: an introduction to plant biology. Philadelphia: Saunders. pp. 348 – 415. USA.
- Moreno, P. N., J. J. López y L. Arce. 1992. Aspectos sobre las semillas y su germinación de *Echinomastus mariposensis* (Hester). Cact. Suc. Mex. 37: 21-27.
- Murashige, T y F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with toboggan tissue culture. Physiologia Plantarum. P.p. 15, 437-497
- Narro, F. E. 1994. Física de suelos. Editorial TRILLAS. México, D. F. 192 pp
- Peña-Yáñez J., Ramos-Parra H., Silos-Espino, L. L., Valera-Montero, G., Tirado-Estrada. 1995. Evaluación de la germinación in vitro de *Echinoactus* spp. Y *Ferocactus* spp. II Congreso Nacional de Biotecnología Agropecuario y forestal, Aguascalientes, Ags. México. 53 pp.
- Polina, M. F. J. 1989. Efecto del acondicionamiento osmótico y las giberelinas sobre semillas de chile serrano (*Capsicum annum* L.) cv. Tampiqueño 74. Tesis UANL. México.
- Rabenda, I. 1990. Breaking dormancy in cactus seed. Cactus and Succulent Journal, 62 (2): 86-94
- Rojas Garcidueñas, M. 1978. Fisiología vegetal. MC GRAW-HILL. México. 294 pp.
- Salisbury, B. F. Y Ross. 1994. Fisiología vegetal. Editorial Iberoamérica S. A de C. V. México, D. F. 759 pp.

Sayers, R. 1982. Pruebas de germinación y vigor. Memorias del curso de actualización sobre tecnología de semillas. UAAAN – AMSAC. pp.129-136. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Seed vigor testing handbook. Ass. Offic. 1993. Seed Anal. New York, USA. 32-34 p.