

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA



Germinación *In Vitro* De Semillas De *Mammillaria pottsii* Scheer ex Salm-Dyck Aplicando Concentraciones De Nutrientes En Medio De Cultivo Murashige y Skoog Y Estimuladores De Germinación

TESIS

POR

MARÍA DEL ROSARIO HERNÁNDEZ LÓPEZ

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Saltillo, Coahuila, México

Mayo 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Germinación *In vitro* de Semillas de *Mammillaria pottsii* Scheer ex Salm-Dyck
Aplicando Concentraciones de Nutrientes en Medio de Cultivo Murashige y Skoog
y Estimuladores de Germinación

Por:

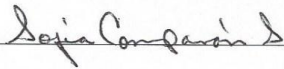
MARÍA DEL ROSARIO HERNÁNDEZ LÓPEZ

TESIS

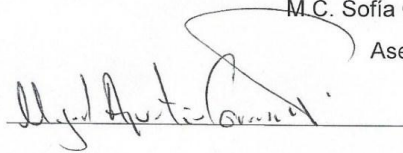
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Aprobada por el Comité de Asesoría



M.C. Sofia Comparán Sánchez
Asesor Principal



Biól. Miguel Agustín Carranza Pérez
Coasesor



Biól. Sergio Antonio Pérez Mata
Coasesor



Dr. Gabriel Gallegos Morales
Coordinador de la División de Agronomía



Coordinación
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Mayo 2016

Correo electrónico; María del Rosario Hernández López,
[chayito tqm@hotmail.com](mailto:chayito_tqm@hotmail.com)

RESÚMEN

El siguiente trabajo tuvo como objetivo la evaluación de la germinación *In vitro* en las semillas de la especie de cactácea *Mammillaria pottsii* Scheer ex Salm-Dyck (endémicas de Coahuila). La investigación se llevó a cabo en el área de siembra e incubación perteneciente al Laboratorio de Biología General del Departamento de Botánica de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México. Se estableció un diseño completamente al azar con 7 tratamientos (T1= MS-100% como testigo, T2= MS-100% + GA₃ (300 ppm), T3= MS-50% + GA₃ (150 ppm), T4= MS-25% + (75 ppm), T5= MS-100% + Escarificación 70%, T6= MS-50% + Escarificación 50%, T7=MS-25% + Escarificación 25%, 4 repeticiones, considerando una unidad experimental de una caja Petri con 10 semillas, teniendo un total de 280 semillas. La variable evaluada fue el porcentaje de germinación, la cual se calculó mediante la siguiente ecuación: $PG = (Ae \cdot 100) / M$, mostrando en graficas los resultados obtenidos ya que solo los tratamientos 3, 5 y 7 lograron germinar donde en el T3 en R1 y R2 se obtuvo un 10%, mientras que para el T5 en R1- 40%, R2- 30% y para el T7 fue el único que obtuvo mayor porcentaje donde R1- 80%, R2- 50%, R3- 30% Y R4-40%. Se concluye que en los tratamientos el que logro el mayor porcentaje de germinación fueron las de escarificación (ácido sulfúrico) aunque difieren con las concentraciones de los sustratos Murashige y Skoog, no se logró lo esperado con los objetivos establecidos ya que solo 3 de los 7 tratamientos lograron obtener germinación.

PALABRAS CLAVES: GERMINACIÓN *IN VITRO*, ÁCIDO GIBERÉLICO, ESCARIFICACIÓN, MEDIO Murashige y Skoog, *Mammillaria pottsii* (Scheer) ex Salm-Dyck.

DEDICATORIA

En especial a mis padres (**Estela y Roberto**) son los seres que me dieron la vida y por la cual daría la mía, ya que gracias a ellos logré este sueño, gracias al apoyo moral, económico, sobre todo y principal el cariño, amor incondicional demostrado, los amo con todo mi corazón.

A mis hermanos en especial a **Toño** que económicamente me estuvo ayudando hasta el último momento, gracias hermanito por todo. Mi única hermana **Ana Rous** que siempre estuvo ahí escuchando mis locuras y dando sus mejores consejos, a mi hermosa **Denisse** un angelito de Dios. **Charly, Pollito y Dani** los pequeños que cada que llegaba a la casa me recibían con su mejor sonrisa. Cuanto los adoro son los mejores hermanos que pude tener, los amo. A mi Tía **Eva** es una persona importante en mi vida.

Con los mejores amigos que disfrute esta etapa tan bonita, años viviendo muchas experiencias y sobre todo locuras juntos jajaja, gracias por su amistad (**Lau, Luci, Ara, Jere, Javi, Romi, Cheches, Eri, Peter**) Por Siempre los llevaré en mi corazón.

Dulce una persona muy linda que me ofreció su amistad, gracias; Josué chico muy lindo y buen amigo. A mi perrito Steewy mi amigo fiel.

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco primeramente a **Dios** por guiar mi camino, al darme fuerzas cuando más lo necesito.

A mi **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro** mi "**Alma Mater**" por abrirme sus puertas y haberme dado la oportunidad de formarme profesionalmente, con orgullo buitre de corazón.

A mi asesora principal **Biol. Sofía Comparan Sánchez** por dame la oportunidad de trabajar con ella.

Al **Biol. Miguel Carranza Agustín** y **Biol. Sergio Antonio Pérez Mata** que formaron parte de esta investigación.

Le agradezco de corazón a **Chelita** quien estuvo conmigo en todo momento para cualquier duda en el proceso del experimento, una muy buena persona.

A mi querido **Jesús Eduardo** es un chico muy hiperactivo y excelente persona, que me ayudó muchísimo desde el inicio y hasta el final del experimento, se ha convertido en un verdadero amigo, gracias Jesusin!! .

ÍNDICE DE CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVO GENERAL	3
III. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
IV. HIPÓTESIS	4
V. REVISIÓN DE LITERATURA	4
5.1. Catálogos de CACTÁCEAS EN MÉXICO	5
5.2. Origen y distribución de las cactáceas	5
5.3. Importancia de las cactáceas	6
5.4. Coahuila y sus cactáceas	7
5.5. Diversidad de cactáceas en Coahuila	8
5.6. Características del GÉNERO <i>Mammillaria</i>	9
5.6.1. Clasificación taxonómica de <i>Mammillaria pottsii</i> Scheer ex Salm-Dyck.	10
5.6.2. Descripción de la especie <i>Mammillaria pottsii</i> scheer ex salm-dyck	12
5.6.3. Distribución de <i>Mammillaria pottsii</i> scheer ex salm-dyck	13
5.7. PROPAGACIÓN DE CACTÁCEAS	14
5.7.1. Propagación asexual	14
5.7.2. Propagación de cactáceas por semillas	16
5.8. Estructura de la semilla	16
5.9. Condiciones generales para la germinación	17
5.9.1. Eventos durante la germinación	19
5.9.2. Dormición	20
5.9.3. Tratamiento para romper la dormancia	23
5.10. Clasificación de las fitohormonas	26
5.10.1. Ácido giberélico para estimular la germinación	27
5.10.2. Ácido giberélico para estimular la germinación en otras plantas	27
5.10.3. Ácido giberélico para estimular la germinación en cactáceas	28

5.11.	La micropropagación.....	29
5.11.1.	Medio de cultivo Murashige y Skoog (1962).....	30
5.11.2.	Condiciones ambientales	31
5.11.3.	Ventajas del sistema de micropropagación	32
5.11.4.	Desventajas del sistema de micropropagación.....	32
VI.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
6.1.	Descripción del sitio experimental	33
6.2.	Preparación de medios Murashige y Skoog (1962).....	34
6.3.	Preparación de semillas	34
6.3.1.	Siembra.....	37
6.4.	Diseño experimental	39
6.5.	Variable dependiente	40
VII.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
VIII.	CONCLUSIONES.....	46
IX.	LITERATURA CITADA	48

ÍNDICE DE CUADROS	Pág.
Cuadro 1.- Géneros representativos en el Estado de Coahuila.....	11
Cuadro 2.- Los componentes del medio Murashige y Skoog (1962).....	38
Cuadro 3.- Concentración de datos de muestreos de <i>Mammillaria pottsii</i>	40

ÍNDICE DE FIGURAS	Pág.
Figura 1.- <i>Mamillaria potssi</i> Scheer ex Salm-Dyck.....	11
Figura 2.- <i>Mamillaria Pottsii</i> Scheer ex Salm-Dyck.....	12
Figura3.- Distribución de <i>Mamillaria pottsii</i> Scheer ex Salm-Dyck.....	13
Figura 4.- Partes de una semilla.....	16
Figura 5.- Porcentaje de germinación de <i>Mamillaria pottsii</i> Scheer ex Salm-Dyck en relación al tratamiento 3 (MS 50% + Ac. Gib 75 ppm) con 4 repeticiones donde R1=10%, R2=10%, R3 Y R4=0%.....	42
Figura 6.- Porcentaje de germinación de <i>Mamillaria pottsii</i> Scheer ex Salm-Dyck en relación al tratamiento 5 (MS 100% + Escarificación 75%) con 4 repeticiones donde R1=40%, R2=30%, R3 Y R4= 0%.....	42
Figura 7.- Porcentaje de germinación de <i>Mamillaria pottsii</i> Scheer ex Salm-Dyck en relación al tratamiento 7 (MS 25% + Escarificación 25%) con 4 repeticiones donde R1=80%, R2=50%, R3= 30 Y R4= 4%.....	43

I. INTRODUCCIÓN

La familia de las Cactáceas tiene una gran importancia en nuestro país principalmente en los paisajes de las zonas áridas y semiáridas, se caracterizan por su peculiar adaptación a la escasez de agua (Rojas y Vázquez, 2000). Comprende aproximadamente 2000 especies en todo el Continente Americano, su centro de origen se encuentra en Sudamérica y México (Palacios, 2010). Para México es considerada de gran importancia en cuanto a su diversidad biológica (Salas *et al*, 2011)

Botanical on line (2014) menciona que las cactáceas son ampliamente utilizadas con varios fines, como alimento humano, aparte de sus frutos también se aprovechan las semillas que se consumen o se machacan, uso medicinal, fuente de materias primas; para la de cercos vivos, fijadoras de suelo para evitar la erosión, como fuentes de forrajes para ganado, obtención de mucilagos, gomas, pectinas, entre otros (Alanís y Velazco, 2008).

En las últimas cuatro décadas han sido sometidas a fuertes presiones antropogénicas por el abuso del uso del suelo y sin una adecuada planificación. Consecuentemente, la destrucción de los hábitats naturales, provocados principalmente por el crecimiento de la frontera agrícola y ganadera o por la demanda de plantas silvestres para fines ornamentales, lo que han provocado daños no cuantificados a las poblaciones de cactáceas (Alanís y Velazco, 2008). Siendo considerados en la categoría de especies en riesgo, amenazada y en peligro de extinción por la norma oficial mexicana (NOM-059-SEMARNAT-2010).

El Estado de Coahuila, históricamente ha estado relacionado con el uso y aprovechamiento de los recursos naturales, teniendo una gran extensión territorial con ecosistemas áridos y semiáridos, en donde se encuentran especies de cactáceas con estatus de protección y conservación, en donde muchas especies de cactáceas son endémicas, y tienen una distribución restringida formando pequeñas poblaciones, lo que las vuelve más vulnerables a la reducción de sus hábitat (Villavicencio *et al*; 2006).

La forma de propagación de muchas especies vegetales es por semilla; sin embargo, algunas consideradas viables son incapaces de germinar, esta característica se denomina latencia, mecanismo de supervivencia a condiciones adversas del clima como: temperaturas bajas, alternancias de épocas secas y húmedas y climas desérticos, esto resulta poco ventajoso cuando se pretende cultivarlas (Fuentes *et al*; 1996). Las giberelinas están implicadas directamente en el control y promoción de la germinación de las semillas; el ácido giberélico (GA₃) puede romper la latencia de las semillas y remplazar la necesidad de estímulos ambientales, tales como luz y temperatura (Araya *et al*; 2000).

Las semillas de cactáceas presentan una testa dura que la protege mientras no se presentan condiciones ambientales adecuadas para germinar, mientras tanto protege al embrión que se encuentra en estado de latencia, y para que, la testa se vuelva flexible, y pueda germinar el embrión se puede aplicar el método de escarificación que consiste en abrir o debilitar la cutícula o estructura externa de las semillas para que la radícula puede abrirse entre ella y se pueda producir una germinación adecuada.

La importancia de esta investigación es de seguir conservando estas especies por lo que se han implementado estrategias de conservación de las cactáceas, desarrollando métodos de germinación *In vitro* y técnicas que induzcan una rápida y mayor porcentaje de germinación.

II. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el porcentaje de germinación en semillas de *Mammillaria pottsii* Scheer ex Salm-Dyck aplicando concentraciones de nutrientes en medio de cultivo Murashige y Skoog y estimuladores de germinación.

III. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar el porcentaje de germinación en semillas *Mammillaria pottsii* Scheer ex Salm-Dyck, bajo diferentes concentraciones de medio nutritivos (Murashige y Skoog. 1962) al 100, 50 y 25 % y estimuladores como el ácido giberélico de 300, 150 y 75 ppm

Evaluar el porcentaje de germinación de las semillas de la especie *Mammillaria pottsii* Scheer ex Salm-Dyck, bajo diferentes concentraciones de medio de cultivo (Murashige y Skoog. 1962) al 100, 50 y 25 % y estimulada con escarificación al 70, 50 y 25 %.

IV. HIPÓTESIS

Las concentraciones del medio Murashige y skoog (1992) y escarificación estimulará significativamente la germinación de *Mammillaria pottsii* Scheer ex Salm-Dyck

Las concentraciones del medio Murashige y skoog (1992) y el GA₃ estimulará significativamente la germinación de *Mammillaria pottsii* Scheer ex Salm-Dyck en comparación con el método de escarificación.

V. REVISIÓN DE LITERATURA

México tiene una gran diversidad de condiciones fisiográficas y climáticas, que lo hacen poseer una de las floras más ricas del mundo, estimándose alrededor de 30,000 especies de plantas vasculares (Rzedowski, 1978; Toledo, 1988).

En cactáceas se reconocen 913 taxones agrupados en 669 especies y 244 subespecies. De esta clasificación se reconocen 63 géneros, en donde el 40% de estos (25 géneros) son endémicos del país, en los que se incluyen 518 especies y 206 subespecies (Rzedowski, 1978).

Del total de taxones reconocidos, 255 se incluyen en la Norma NOM-059ECOL-2001; 65 en el libro rojo de la UICN; Unión Internacional de Conservación de la Naturaleza y los Recursos Naturales y 41 taxones se incluyen en el Apéndice I del CITES, localizando su máxima riqueza en las regiones áridas y semiáridas, entre los que se encuentran el Desierto Chihuahuense (Guzmán et al., 2003).

De acuerdo con la UICN para México se reportan aproximadamente 300 especies de plantas superiores amenazadas o en peligro de extinción, de las cuales el 60% son especies de cactáceas o suculentas.

5.1. Catálogos de cactáceas en México

En México, los trabajos taxonómicos de cactáceas más importantes corresponden a las obras de Bravo (1978) y Bravo y Sánchez (1991 a, b). Obras relevantes incluyen a Arias et al; 1997,2012 quienes realizaron el tratamiento taxonómico de las cactáceas del valle de Tehuacan-Cuicatlan donde incluyeron el nombre científico, nombre común, sinonimia, descripción de especies, distribución, hábitat, fenología y claves para determinar especies y subespecies.

Por su parte, Arias *et al*, (2001) publicaron el catalogo “las plantas de la región de Zapotitlan Salinas, Puebla”. En este trabajo se incluyeron el nombre común, nombre científico y las características morfológicas distintivas y una ilustración de cada especie. También Guzmán *et al*, (2003) elaboraron un catálogo de las cactáceas mexicanas basado en el sistema de clasificación que recopilaron Hunt (1999), Bravo (1978) y Bravo y Sánchez (1991 a, b), entre otros. El cual cuenta con información de sinónimos, basonimos, nombres comunes y categorías de riesgo.

5.2. Origen y distribución de las cactáceas

La familia de las cactáceas tienen su origen en el continente americano y presenta una gran diversidad biológica y morfológica, ancestralmente se consideran como cactus o arboles medianos, de hojas anchas y delgadas, presentaban troncos

leñosos, y se podían encontrar tanto en lugares áridos como en lugares templados. Actualmente podemos encontrar cactáceas que presentan estructuras muy variadas, desde suculentas gigantes, de aspecto arbóreo hasta diminutas cactáceas, desde formas globosas y grandes trepadoras (Delgado, 2007).

La mayor parte de las especies habitan regiones áridas y semiáridas del país. Estas incluyen al desierto Chihuahuense, al desierto Sonorense, la zona árida Queretano-Hidalguense, el Valle de Tehuacan-Cuicatlan, la Depresión del Balsas, la región más seca de la Península de Yucatán y la Costa del Pacífico en el Istmo de Tehuantepec (Burquez, 2009).

En la actualidad aún no se conocen el número exacto de especies que constituyen el grupo de cactáceas a pesar de estudios taxonómicos (Martínez, 1998).

Según Martínez, (1998) y Bravo, (1978) estiman que esta familia comprende aproximadamente 1,500 géneros, entre 600 y 900 especies, representan un 76% y 84% de endemismo en nuestro País, así mismo Hernández y Godínez (1994) reportan 563 especies y 77.9% endémicas.

5.3. Importancia de las cactáceas

Las cactáceas son importantes ya que actualmente son utilizadas para:

1.- Plantas alimenticios

La mayoría de los géneros o especies son ampliamente utilizados por el hombre como alimento (fruto y tallo), a excepción del género *Pereskia*.

2.- Plantas forrajeras

Muchas son cultivadas o aprovechadas en estado salvaje para alimentar el ganado (*Cephalocereus*, *Ferocactus*, *Mammillaria*, entre otras), constituyendo un recurso fundamental al encontrarse en zonas muy áridas donde la presencia de plantas es prácticamente nula.

3.- Protección del Suelo

En algunos lugares se utilizan para fijar el suelo y prevenir la erosión; al igual son empleadas como abono.

4.- Plantas medicinales

Algunas son utilizadas por sus propiedades medicinales o tóxicas, siendo el peyote (*Lophophora willamsii*) mundialmente reconocido por sus propiedades alucinógenas.

5.- Plantas ornamentales

Debido a que la mayoría de las cactáceas son admiradas por sus atractivas flores, sus extravagantes formas o sus erizadas púas, han sido ampliamente explotadas en la jardinería, lo que ha llevado a muchas de ellas a encontrarse al borde de la extinción.

5.4. Coahuila y sus cactáceas

El estado de Coahuila forma parte del Desierto Chihuahuense, en donde muchas especies de cactáceas son endémicas, y tienen una distribución restringida formando pequeñas poblaciones, lo que las vuelve más vulnerables a la reducción de sus hábitats.

En la entidad la alta diversidad de la familia Cactaceae, está representada por los géneros; *Mammillaria*, *Thelocactus*, *Turbiniacarpus*, *Ariocarpus*, *Stenocactus*, *Escobaria*, *Epithelantha*, *Ferocactus*, *Echinocactus*, *Leuchtenbergia*, *Pelecyphora*, *Opuntia*, *Astrophytum*, *Coryphantha*, *Echinocereus*, *Echinomastus*, *Lophophora*, *Neolloydia*, *Peniocereus* y *Wilcoxia*.

La diversidad y endemismo de las cactáceas del Desierto Chihuahuense están siendo afectadas por la destrucción de sus hábitat, causadas por diversas actividades antropogénicas como; la ganadería (caprina, bovina y equina), agricultura de temporal, asentamientos humanos y construcción de vías de comunicación. Sin embargo, el daño más severo a las poblaciones naturales de cactáceas ha sido la colecta excesiva y selectiva de plantas y semillas, actividad que durante décadas se ha realizado, considerando principalmente a especies endémicas de tamaño pequeño, las cuales han sido comercializadas en el mercado nacional e internacional a un alto costo (Marroquín et al., 1964; López et al. 1990 y Villavicencio, 1998).

5.5. Diversidad de cactáceas en Coahuila

La familia Cactaceae, por su diversidad vegetal, ocupa en el estado de Coahuila el cuarto lugar después de las familias de *Asteraceae*, *Poaceae* y *Fabaceae* (Villarreal, 2001). Por su extraordinaria morfología y adaptación, las cactáceas del estado están representadas por numerosas especies, siendo una de las entidades más ricas y variadas en poblaciones naturales, ocupando el quinto lugar en número de géneros después de San Luís Potosí, Oaxaca, Tamaulipas y Nuevo León, con géneros registrados. En número de especies el estado ocupa el

segundo lugar después de Oaxaca; comprendiendo 148 especies; sin embargo, el efecto de fenómenos naturales y el impacto que han tenido las diversas actividades humanas están provocando una deforestación y destrucción de los hábitats naturales, provocando un cambio drástico en algunas especies endémicas.

A pesar de que la entidad es una de las más ricas en diversidad de cactáceas, no se le ha dado la importancia que se merece a esta gran familia, dando como resultado que muchas especies se encuentren amenazadas y en peligro de extinción; sin embargo, a nivel internacional su importancia ha quedado documentada en los catálogos de horticultura de diferentes países, encontrando que más de 600 especies mexicanas se ofrecen en venta, destacando principalmente las cactáceas y orquidáceas, lo que ha puesto en riesgo la bioseguridad de nuestra diversidad genética (Elizondo et al 1991; SINAREFI, 2004).

5.6. Características del género *Mammillaria*

Son Plantas pequeñas, simples o cespitosas, presentan Tallos globosos, globosos-aplanados, cortamente cilíndricos, generalmente erectos, rara vez rastreros o pendulosos, con jugo acuoso, semi-lechoso o lechoso; Los Tubérculos se encuentran dispuestos en series espiraladas, 3 y 5, 5 y 8, 8 y 13, 13 y 21 o 21 o 34, más o menos numerosos, cónicos, cónicos cilíndricos, cónicos piramidal, duros o suaves, sin surco areolar ni glándulas. Las Areolas son dimorfas, provistas de lana cuando jóvenes, con o sin cerdas. Las Espinas diferenciadas en centrales y radiales, varían en número, forma, color; pueden ser aciculares, subuladas o

aplanadas, rectas curvas. Las Flores están dispuestas en corona cerca ápice pequeño o algo grandes, infundibuliformes o campanulada, color blanco, amarillo, rosado, rojo o púrpura; el pericarpelo sin escamas y el tubo receptacular corto. Los estambres son escasos, incluidos, insertos en el límite superior del anillo nectarial, los lóbulos del estigma lineares. Con respecto al Fruto este es una baya pequeña, claviforme sin escamas, de color rosado, púrpura hasta escarlata. Las Semilla con testa reticulada, A B son de color castaño oscuro o rojizo o casi negro y el embrión es ovoide o algo cilíndrico muy succulento con los cotiledones reducidos o ausentes

(Bravo y
1991).

REINO	Plantae
--------------	---------

Sánchez,

5.6.1. Clasificación taxonómica de *Mammillaria pottsii* Scheer ex Salm-Dyck.

DIVISIÓN	Magnoliophyta
CLASE	Magnoliopsida (dicotiledones)
ORDEN	Caryophyllidae
FAMILIA	Cactáceae
SUB FAMILIA	Cactoideae
TRIBU	Cactine
GÉNERO	<i>Mammillaria</i>
ESPECIE	<i>Pottsii</i>
	Scheer ex Salm-Dyck



a)



b)

Figura 1.- a y b).- *Mammillaria pottsii* Scheer ex Salm-Dyck

Cuadro 1.- Géneros representativos en el Estado de Coahuila

Géneros de *Mammillaria* representativas en Coahuila

ESPECIE	AUTOR	ESPECIE	AUTOR
<i>M. albiarmata</i>	Boedeker	<i>M. magallanii</i>	Schmoll ex Craig
<i>M. ritteriana</i>	(Böed) Monats	<i>M. luethyi</i>	Hinton
<i>M. candida</i> var. <i>candida</i>	Scheidw	<i>M. plumosa</i>	Weber
<i>M. carretii</i>	Rebut	<i>M. pottsii</i>	Scheer ex Salm-Dyck
<i>M. coahuilensis</i>	(Boedeker)	<i>M. formosa</i>	Galeotti ex Scheidw
<i>M. chionocephala</i>	Purpus	<i>M. denudata</i>	(Eng.) Br & R
<i>M. glassii</i>	Ruengue	<i>M. melanocentra</i>	Poselger
<i>M. grusonii</i>	Ruengue	<i>M. sphaerica</i>	Eng
<i>M. lasiacantha</i>	Engelmann	<i>M. pottsii</i> spp. <i>multicaulis</i>	Reppenhagen
<i>M. lenta</i>	(Brandegeee)	<i>M. freudenbergeri</i>	Glass

5.6.2. Descripción de la especie *Mammillaria pottsii* scheer ex salm-dyck

Tallo simple o cespitoso, cilíndrico, de 8 a 15 cm de altura y 3 a 4 cm de diámetro, ápice redondeado. Tubérculos dispuestos en 8 y 13 series espiraladas, cónicos, de color verde azulado, con jugo acuoso. Axilas con lana blanca. Aréolas casi circulares hasta ovales, con algo de lana cuando jóvenes. Espinas radiales hasta 35, aciculares, rectas, suaves, lisas, blancas, horizontales y entrelazadas. Espinas centrales 7 a 10, todas gruesamente s, de 10 mm de longitud, color aciculares,

rectas, las superiores algo curvas, amarillentas hasta grisáceo purpúreas. Flores infundibuliformes, laterales de 10 mm de longitud, color crema y franja media rojiza. Fruto claviforme, rojo, conservando adheridos los restos secos del perianto. Semillas punteadas, de color café oscuro, casi negro. Distribución Texas, Chihuahua, Durango, Zacatecas y Coahuila (Monclova, Ramos Arizpe, entre Monterrey y Saltillo, en las Higueras y en General Cepeda) (Bravo y Sánchez, 1991).

a)

Figura 2. a).- *Mammillaria Pottsii* Scheer ex Salm-Dyck

5.6.3. Distribución de *Mammillaria pottsii* scheer ex salm-dyck

Especie bastante abundante en diversas localidades del Desierto Chihuahuense, donde crece en todo tipo de terrenos, desde lomeríos rocosos bajos, hasta paredes de arroyos y superficies abiertas rocosas, en alturas comprendidas entre 800-1600 msnm. En las localidades tipo es posible encontrar hasta 2 individuos por metro cuadrado, las cuales contienen como flora asociada, todo tipo de

matorral xerófito. Los alrededores de Saltillo son ricos en esta especie, los cuales sin embargo están siendo fuertemente impactados por el crecimiento de la región. No se le considera una especie en riesgo de extinción pero su notable belleza y su lento crecimiento hacen que se le considere candidata a rescates para reintroducción en áreas de resguardo.

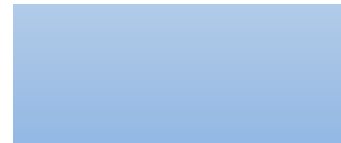


Figura3.- Distribución de *Mammillaria pottsii* Scheer ex Salm-Dyck

5.7. Propagación de cactáceas

Las cactáceas se pueden propagar de dos formas asexual y sexual.

5.7.1. Propagación asexual

Arredondo (2000), explica los siguientes tipos de propagación asexual:

La propagación por brotes o vástagos es una técnica relativamente fácil, ya que solo se trata de desprender los brotes que emergen alrededor de la planta madre. Una vez desprendidos se dejan cicatrizar durante diez a quince días en un sitio seco y ventilado; se esparce sobre los cortes azufre en polvo o algún fungicida para evitar la proliferación de bacterias y hongos, después se plantan en un sustrato, se coloca a media sombra y se riegan cada vez que el sustrato está seco. La ventaja de este método es la rápida obtención de plantas adultas y su desventaja consiste en la carencia de recombinación genética que es muy importante para la conservación.

Propagación por esquejes consiste en cortar brazos o pedazos de tallo, que deben dejarse cicatrizar en un lugar seco y ventilado. Se debe cortar con una navaja desinfectada con hipoclorito de sodio o alcohol y a cada corte adicionar un poco de azufre o fungicida con enraizador sobre el corte (no indispensable) para facilitar el enraizamiento y evitar las enfermedades o pudrición del esqueje.

Propagación por injerto consiste en unir porciones de dos plantas distintas. Se recomienda aplicar esta técnica para propagar especies amenazadas o en plantas que han sido afectadas por alguna enfermedad ya que puede acelerar el desarrollo y crecimiento de plantas que han perdido el sistema radicular y para aquellas que tienen dificultades para vivir directamente en el suelo o para obtener ejemplares llamativos.

En caso de *Mammillaria pottsii* Scheer ex Salm-Dyck es una especie cespitosa amacollada la cual permite o facilita su propagación cuando las semillas no logran germinar.

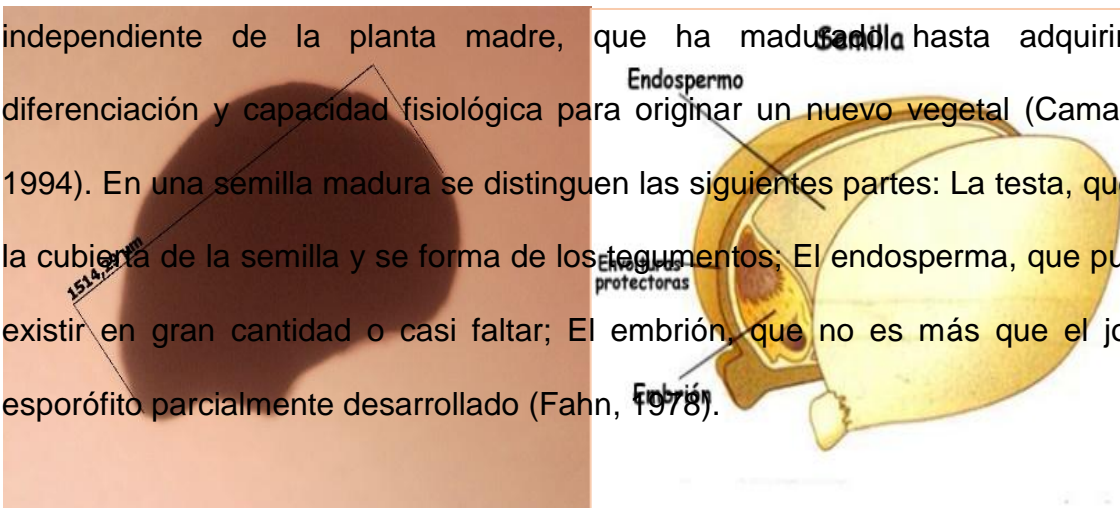
5.7.2. Propagación de cactáceas por semillas

La propagación de cactáceas puede llevarse a cabo por división de matas, estacas, injertos, cultivo de tejidos y por semilla. Esta última forma ofrece algunas ventajas y desventajas. Las ventajas son; es la más barata, las plantas estarán sanas, sin marcas y mejor adaptadas a las condiciones ambientales del lugar de cultivo y además con esta forma de propagación se puede permitir el flujo o la reaparición de caracteres no expresados en generaciones pasadas. Las desventajas o los problemas relacionados con la germinación de semillas son; sustancias inhibidoras, el fotoblastismo positivo (necesitando un estímulo de luz para germinar), viabilidad reducida y la presencia de algún tipo de dormancia o latencia.

5.8. Estructura de la semilla

La semilla es el medio de reproducción sexual de las espermatofitas, gimnospermas y angiospermas; y es definida como un óvulo fecundado, independiente de la planta madre, que ha madurado hasta adquirir la

diferenciación y capacidad fisiológica para originar un nuevo vegetal (Camacho, 1994). En una semilla madura se distinguen las siguientes partes: La testa, que es la cubierta de la semilla y se forma de los tegumentos; El endosperma, que puede existir en gran cantidad o casi faltar; El embrión, que no es más que el joven esporófito parcialmente desarrollado (Fahn, 1978).



a)

b)

Figura 4. a).- Semilla *M. pottsii* Scheer ex Salm-Dyck, b).- Partes de una semilla.

5.9. Condiciones generales para la germinación

Camacho (1994) describe que la germinación es el proceso mediante el que un embrión adquiere el metabolismo necesario para reiniciar el crecimiento y transcribir las porciones del programa genético que lo convertirán en una planta adulta; mientras que Reyes (1993) define a la germinación como aquel proceso que incluye los cambios tanto físicos como fisiológicos que dan como resultado la iniciación del crecimiento y movilización de las sustancias de reserva dentro de la semilla y que son utilizados por el embrión para su crecimiento y desarrollo

Según Hartmann y Kester citado por Camacho (1994) para que la germinación se realice, se necesita que: a) La semilla sea viable, o sea, que tenga un embrión vivo capaz de crecer; b) se tenga la temperatura, aeración y humedad adecuada para el proceso y c) se eliminen los bloqueos fisiológicos presentes en las semillas, que impiden la germinación. Mientras que Pollock y Toole (1962), citados por Reyes (1993), mencionan que las condiciones requeridas para la germinación son: la expresión de la herencia de las semillas, influida por el medio ambiente durante la formación de la misma.

De acuerdo con estos autores la iniciación de la germinación requiere que se cumplan tres condiciones:

1. La semilla debe ser viable, esto es, el embrión debe estar vivo y ser capaz de germinar.
2. La semilla no debe estar en latencia ni el embrión quiescente. No debe existir barreras fisiológicas o físicas que induzcan latencia ni barreras químicas para la germinación.
3. La semilla debe estar expuesta a las condiciones ambientales apropiadas: disponibilidad de agua, temperatura adecuada, provisión de oxígeno y en ocasiones luz.

Dentro de los requerimientos de las semillas para que germinen se encuentran ciertas condiciones extrínsecas; por lo que Ruíz et al (1962) considera cuatro factores como son:

Humedad. Cuando el protoplasma entra en actividad debe contener suficiente proporción de líquido; también es importante en la disolución de sustancias de reserva y transporte de las mismas. De igual manera actúa en el desarrollo de las reacciones químicas que se realizan en el proceso de la germinación, además de reblandecer, hinchar y romper la cubierta de la semilla.

Temperatura. Cada especie tiene una temperatura óptima para su germinación lo que se confirma con el tipo de clima al que pertenecen; siendo generalmente entre 20° y 30° C la temperatura más conveniente durante la germinación; sin embargo, existen rangos muy altos (40° C) o muy bajos (-5° C) obstaculizan el desarrollo del embrión. Ballester (1978), considera que la temperatura requerida para la

germinación de semilla de cactus y otras plantas suculentas varía con la especie y oscila entre el 21-30° C.

Aire. Las oxidaciones de las sustancias orgánicas se efectúan por medio de oxígeno, estas sustancias orgánicas, estas sustancias orgánicas son la fuente de energía del embrión durante su desarrollo, debido al aumento de la respiración durante la germinación.

Luz. Aunque la mayoría de las especies germinen en ausencia de luz, en algunas es indispensable.

5.9.1. Eventos durante la germinación

Copeland (1976), afirma que en la mayoría de las semillas se sigue el mismo patrón de germinación, en la que se realizan una serie específica de eventos principales como son:

Imbibición: Los principales factores que influyen en la imbibición son la absorción del agua por la semilla, la composición de la misma, la permeabilidad de la cubierta y la disponibilidad del agua.

Activación de enzimas: La activación de enzimas empieza muy rápidamente al inicio de la germinación a medida que se hidrata la semilla (Bewley y Black, 1978 citados por Rodríguez 1997).

Digestión y translocación de reservas: En el endospermo, en los cotiledones, en el perispermo o en el gametofito femenino (en el caso de las coníferas) se almacenan grasa, proteínas y carbohidratos, estos compuestos son digeridos a

sustancias más simples, los cuales son trasladados a los lugares de crecimiento del eje embrionario.

Crecimiento del embrión: El desarrollo de la planta resulta de la división celular continuada en puntos de crecimiento separados del eje embrionario, seguido por la expansión de las estructuras de la plántula. La iniciación de la división celular en los puntos de crecimiento es independiente de la iniciación de la elongación celular; por lo que una vez que comienza el crecimiento de en el eje embrionario se incrementa el peso fresco y el peso seco de la plántula, pero disminuye el peso total de los tejidos de almacenamiento.

Emergencia de la radícula: La emergencia de la radícula es lo que indica que el proceso de germinación está completo y puede estar terminando a través de la elongación o división celular.

Establecimiento de la plántula: Las plantas se mantienen así mismas cuando pueden abastecerse de agua y fotosintetizar, inicialmente se someten a un estado de innovación durante el cual producen algún alimento propio dependiendo en forma parcial del desdoblamiento de las reservas de los tejidos de almacenamiento; así como la plántula se va implantando firmemente en el suelo, esta absorberá el agua e ira procesando su propio alimento, para lograr se autonomía.

5.9.2. Dormición

En México se usan las palabras dormancia, dormición, latencia, letargo, reposo y vida latente, para referirse a la ausencia o inhibición del crecimiento vegetal y en

particular, de la germinación; por lo que en este trabajo se utilizara el termino Dormancia de acuerdo con la definición de Salisbury (1994).

Dormancia es el estado en el que se encuentra una semilla viable sin que germine, aunque disponga de suficiente humedad para embeberse, una aeración similar a la de las primeras capas de un suelo bien ventilado, y una temperatura que se encuentre entre los 10° y 30° C.

Según Camacho (1994) los tipos de dormancia se clasifican en:

Física: esta dormancia se manifiesta cuando, al final de las pruebas de germinación, queda una cantidad de semillas cuyo volumen y dureza no se modifican y que se conocen como semillas duras o impermeables, por lo que dicha dormición se pierde cuando el agua penetra en la semilla, es decir debe desaparecer la impermeabilidad en algún sitio de la testa. Las semillas con dormancia física adquieren la impermeabilidad al final de la maduración, durante la desecación; por lo que si se cosechan antes de alcanzar su completa madurez y se siembran en seguida, o bien se almacenan en un ambiente húmedo, se evita que haya impermeabilidad. Se cree que ésta resulta de que la testa sufre un encogimiento que compacta las células del macroesclerénquima, presionándolas fuertemente unas contra otras, asimismo, se piensa que en este periodo, la dormición física es resultado de la oxidación de fenoles en presencia de quinona (lo que da origen a un pigmento); en el apoyo a esto, se ha observado en algunas especies una relación directa del color de la testa con la impermeabilidad: entre más oscura, más impermeable.

La dormición física se pierde cuando el agua penetra en la semilla; es decir, debe desaparecer la impermeabilidad en algún sitio de la testa; por las altas y bajas temperatura, el efecto de los choques térmicos son algunos de los mecanismos de eliminación de esta dormancia.

Química: la germinación es bloqueada por aquellos inhibidores del crecimiento que se encuentran en la cubierta más expuesta al medio, y que pueden ser el pericarpio, la testa o las partes florales adheridas a la semilla. Alguno de los inhibidores presentes en semillas presentan esta dormancia son compuestos fenólicos, cumarina, cafeína, lactonas no saturada, ácidos absicico, sinidrico y algunos terpenos. Para que las semillas con dormición química germinen es necesario que se eliminen los inhibidores presentes en las cubiertas que los contienen.

Mecánica: en las semillas con testa o endospermo duro y sobre todo en las cubiertas por un endocarpio grueso, duro e indehiscente, la demora de la germinación puede atribuirse a que estos tejidos oponen resistencia mecánica al crecimiento del embrión. A pesar de que lo anterior es teóricamente posible, no existe evidencia contundente, ya que las semillas que se piensa poseen dormición mecánica, también presentan dormición fisiológica, inhibidores en las cubiertas o ambas cosas, lo que afecta enormemente la fuerza que puede desarrollar el embrión.

Fisiológica: este es el resultado de bloqueos metabólicos en el embrión, sostenidos por la baja permeabilidad de la cubierta a los gases. Dichos bloqueos se manifiestan en la incapacidad del embrión para crecer y atravesar la cubierta.

Los embriones de las semillas con este tipo de dormición presentan una actividad enzimática baja, lo mismo que la producción de enzimas, coenzimas y ácidos nucleicos. Para que las semillas con dicha dormición puedan germinar se requiere de la pérdida de bloqueos metabólicos para que el embrión sea capaz de vencer la resistencia opuesta por las cubiertas. Esta pérdida puede efectuarse por la influencia de estímulos ambientales, que funcionan como indicadores de las condiciones del medio y son adecuadas para el desarrollo de la planta.

Morfológica: en algunas plantas el crecimiento de los embriones se detienen cuando no se han desarrollado completamente, por lo que sus semillas maduras presentan embriones rudimentarios; como se ve la presencia de estos es una característica de la especie que no depende del tiempo transcurrido desde la fecundación hasta la maduración de las semillas; por lo que la diferenciación y el tamaño del embrión rudimentario varía según la especie. Para eliminar el bloqueo a la germinación en semillas con dormancia morfo-fisiológica, primero debe desarrollarse el embrión, por lo que si se invierte la secuencia de calor y frío, la dormición no se elimina, y si esta es simple, el crecimiento del embrión se realiza principalmente en el periodo cálido y continuo en el frío.

Combinada: teóricamente es la combinación de todos los tipos de dormancia. Cuando se presenta la dormición combinada casi siempre es necesario aplicar más de un tratamiento para que las semillas germinen.

5.9.3. Tratamiento para romper la dormancia

Para propósitos de propagación de plantas por medio de la semilla, es requisito indispensable la aplicación de métodos o prácticas para romper la dormancia, esto

depende al tipo o a la causa que la induzca; pero por lo general no existe una sola causa que la propicie, por tal motivo esto hace que el rompimiento sea más complicado. Los tratamientos dependerán del tipo de dormancia que presente cada especie.

Congelamiento: Consiste en someter a las semillas a temperaturas por debajo de 0° C (generalmente en seco). El congelamiento se consigue con aparatos de refrigeración o con inmersiones en gases licuados que llegan a alcanzar temperaturas por debajo de -180° C (Camacho, 1994).

Pre-enfriamiento: Consiste en la aplicación de periodos de frio, para ello se coloca la semilla en el sustrato húmedo que se utiliza durante el ensayo de germinación y bajo estas condiciones se someten al periodo de enfriamiento, en algunos casos se prolonga el periodo o se repite; la temperatura recomendada es de 5- 10° C por periodos de 3-7 días, y aún mayores dependiendo de la especie y de la intensidad de la dormancia (Pérez, 1990).

Pre-secado: Las semillas son colocadas a una temperatura que no exceda los 40° C (35-40° C) bajo continua circulación de aire, durante un periodo hasta de 7 días, después de secarlas se somete a la prueba general de germinación (Pérez, 1990).

Luz: Las semillas en ensayo de germinación a temperaturas alternas, deberán ser iluminadas un mínimo de 8 horas en ciclos de cada 24 horas y durante el periodo de altas temperaturas, la intensidad de la luz debe ser aproximadamente 750-1250 lux, de lámpara de luz blanca, respondiendo muchas a este tratamiento con luz; por lo que se recomienda el uso de lámparas fluorescentes de luz blanca (Reyes, 1993).

Tratamientos térmicos: El agua caliente y el quemado de los frutos puede estimular la germinación; aunque es frecuente que también reduzca su posibilidad de vida.

Prelavado de semillas: En forma natural existen sustancias en el pericarpio que actúan como inhibidores para la germinación y los cuales pueden ser removidos de la cubierta mediante el lavado de las semillas en agua que este corriendo a una temperatura de 25° C antes de realizar la prueba de germinación (Pérez, 1990).

Remojo: Las semillas que presentan cubiertas duras pueden germinar rápidamente si son sometidas a un pretratamiento de remojo durante un tiempo aproximado de 24 a 48 horas en agua, por lo que la lixiviación de los inhibidores puede lograrse mediante un periodo continuo de remojo en agua, la prueba de germinación se realiza después de terminado el remojo (Reyes, 1993).

Remojo y secado: Los ciclos de remojo y secado pueden debilitar una cubierta dura, pues además de lixiviar los inhibidores y de provocar las tensiones por el humedecimiento y la pérdida de humedad, por lo que pueden llegar a abrir el endocarpio (Camacho, 1994).

Remoción de estructuras circundantes: Para promover la germinación en ciertas especies deberán extirparse algunas estructuras; ya que son aquellas que se involucran de alguna forma en la presencia de la dormancia (Reyes, 1993).

Fitoreguladores: El sustrato se humedece con una solución de ácido giberélico a 550 ppm, que se prepara disolviendo 500 mg de ácido en un litro de agua; cuando

la latencia es más débil se puede utilizar concentraciones más bajas y viceversa (Moreno, 1992).

Escarificación: Según Salisbury (1994) define a la escarificación como la ruptura de la barrera de recubrimiento seminal.

Escarificación mecánica: Consiste en raspar, quebrar o perforar las cubiertas de las semillas, ya sea manualmente o con aparatos; con métodos como la fragmentación, tallado o lijamiento, los cuales son aplicados a la cubierta de la semilla; esto puede ser suficiente para romper la condición de dormancia por cubiertas duras o impermeables. La semilla que va a ser tratada debe tomarse y hacer la escarificación con mucho cuidado para no provocar daños al embrión; la mejor parte de la semilla para la escarificación mecánica es la parte de la cubierta que esta junto a los cotiledones (Reyes, 1993).

Escarificación química: La digestión con ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) es efectivo en algunas especies; para este caso las semillas se sumergen en el ácido hasta que la cubierta de las semillas comienza a abrirse; la digestión puede ser rápida o tomar más de una hora, sin embargo las semillas deben ser examinadas cada cierto tiempo (unos minutos), después de la digestión estas deben ser lavadas con agua que este corriendo antes de aplicar la prueba de germinación (Reyes, 1993).

5.10. Clasificación de las fitohormonas

La clasificación de las fitohormonas llamadas clásicas, se han agrupado en cinco grupos principales: las auxinas, las citoquininas, las giberelinas, el etileno y el

ácido abscisico (García-Breijo et al; 2006). Otras sustancias que eventualmente pueden clasificarse como fitohormonas son: las oliaminas, jasmonatos, el ácido salicílico, los brasinosteroides y las sistemina.

5.10.1. Ácido giberélico para estimular la germinación

Las giberelinas son fitorreguladores que son sintetizados en muchas partes de la planta, pero más especialmente en áreas de crecimiento activo como los embriones o tejidos meristemáticos. Se conocen aproximadamente cerca de 112 giberelinas y se denominan sucesivamente GA₁, GA₂, GA₃.....GA₁₁₂ (Rojas y Rovalo, 1985), el GA₃ es el único de uso comercial.

El ácido giberélico induce la síntesis de amilasa que es la enzima que se encarga en la desintegración de las reservas de almidón durante la germinación de la semilla. Debido a esta función estimula la germinación de la semilla de diversas plantas que presentan latencia (Baskin y Baskin, 1998; Lewak y Khan, 1977; Bewley y Black, 1994; Mandujano et al; 2007).

5.10.2. Ácido giberélico para estimular la germinación en otras plantas

El GA₃ se ha utilizado para muchas funciones en las plantas, de esta manera se han realizados experimentos donde el GA₃ induzca a la semillas en germinación.

Zaldivar *et al.*, 2010 trabajaron en la germinación de *Jaltomata procumbens* (cav.) J.L. Centry, donde los tratamientos utilizados fueron 0; 50; 100; 150; 200 y 250 mg/l de- GA₃ con 12 y 24 h de remojo. Según los resultados, el tratamiento 250 mg/l presentó un 87,0% de germinación con 1,7 plantas/germinadas/día en un periodo de 25,5 días.

Otros investigadores como Fuentes et al. (1996 a, b) obtuvieron un 52% en semillas de *Ocimum gratissimum* L., con 250 ppm de GA₃, y de 63.5 cuando aplicaron 1000 ppm en semillas de *Stephania rotunda* L.; Hernández (2004), reporta 45,4% de germinación en chile silvestre con dosis de 500 ppm de GA₃. Por su parte, López y Enríquez (2004), encontraron 60% de germinación en semillas de *Dalea lutea* (cav.) Willd cuando aplicaron 1000 ppm de GA₃.

De la vega y Alizaga (1987) trabajaron con las semillas de salvia (*Salvia splendens*), mostraron que el GA₃ en concentraciones de 100 y 150 u/ml obtuvo un promedio de 87% de germinación lo que representa un incremento de 73% en comparación con el testigo, considerando doce sustratos diferentes.

5.10.3. Ácido giberélico para estimular la germinación en cactáceas.

Existen diversos trabajos donde se han mostrado el buen funcionamiento del ácido giberélico, se mencionan algunos de ellos:

Mandujano *et al.*, 2007 trabajaron con GA₃ en germinación de tres especies del genero opuntia donde se llevó acabo la germinación de semillas con adición de ácido giberélico al 200 ppm con un control (sin ácido giberélico) bajo condiciones controladas de luz y temperatura. Encontraron que hubo diferencias significativas entre las especies, pero no entre la germinación con adición de GA₃ (27.4% ± 1EE 3.5) y el control (28.4% ± 3.6). La interacción entre ambos factores tampoco resultó significativa. El porcentaje de germinación de *Opuntia microdasys* (47.5%) fue el mayor, el de *O. rastrera* intermedio (30.9%) y el más bajo se observó en *O. macrocentra* (5.3%).

5.11. La micropropagación

Pierik en 1990 define al cultivo in vitro como el cultivo sobre un medio nutritivo, en condiciones estériles, de plantas, semillas, embriones, órganos, tejidos, células y protoplastos de plantas superiores. La técnica de cultivo de tejidos se caracteriza porque:

1. Ocurre a micro-escala sobre una superficie relativamente pequeña.
2. Se optimizan las condiciones ambientales, en lo que se refiere a los factores físicos, nutricionales y hormonales.
3. Se excluyen todos los micro-organismos (hongos, bacterias y virus), así como también las plagas de las plantas superiores (insectos y nematodos).

Existen diferentes tipos de cultivo in vitro:

1. **Cultivo de plantas intactas:** es cuando se siembra la semilla in vitro, obteniéndose primero una plántula y finalmente una planta.
2. **Cultivo de embriones:** se cultiva el embrión aislado después de retirar el resto de los tejidos de la semilla.
3. **Se cultiva in vitro un órgano aislado:** se pueden distinguir distintos tipos como son el cultivo de meristemas, cultivo de ápices del vástago, cultivo de raíces, cultivo de anteras, etc. Generalmente una porción (de tejido u órgano), aislada de una planta, se denomina explante, y a su cultivo, cultivo de explanto.
4. **Cultivo de callo:** se llama así, cuando una porción de tejido se des diferencia in vitro, originando un callo.

5. **Cultivo de células aisladas:** es el crecimiento de células individuales, obtenidas de un tejido, callo o cultivo en suspensión, con la ayuda de enzimas o mecánicamente

6. **Cultivo de protoplastos:** se obtienen a partir de células, por digestión enzimática de la pared celular (Pierik, 1990).

5.11.1. Medio de cultivo Murashige y Skoog (1962).

Los componentes esenciales del medio de cultivo son sales minerales, sustancias orgánicas y complejos naturales.

Sales minerales

Existen diversas formulaciones minerales de composición química muy variable, las diferencias radican fundamentalmente en los niveles de macroelementos, bajos en algunos casos y muy altos en otros.

Sustancias orgánicas

Hidratos de carbono; El compuesto más utilizado es la sacarosa, a unos niveles entre 2 y 3 %.

Agar

Es un compuesto inerte que se usa para solidificar el medio de cultivo. Las concentraciones más utilizadas fluctúan entre 0,6-1%, existiendo una relación directa entre la concentración de agar y la dureza del medio de cultivo.

5.11.2. Condiciones ambientales

Luz

La intensidad, fotoperiodo y zona de espectro son los tres parámetros que se han de considerar. Los valores del fotoperiodo suelen oscilar alrededor de 16 horas; los tipos de lámpara utilizados son blanca fría, para todas las fases del proceso, aunque en general parece que la luz azul es la que tiene mayor incidencia en la proliferación de tallos y la luz roja mejora claramente el enraizamiento. La luz, a veces inhibe el crecimiento de tejido de callo e incluso procesos de morfogénesis en algunas bulbosas. Estas inhibiciones podrían estar relacionadas con la aceleración del metabolismo de auxinas que puede tener lugar en presencia de luz.

Temperatura.

La temperatura en cámara de cultivo suele fluctuar entre 22° C para frutales de clima templado y 28° C para especies tropicales.

Humedad.

Normalmente la humedad relativa en cámaras de cultivo se debe de mantener entre el 60 y 70% aunque en el interior de los recipientes de cultivo es superior. Sin embargo humedades relativas muy altas, 96%, pueden causar problemas de vitrificación, mientras que los valores muy bajos provocan desecación en los explantes y en el medio de cultivo.

Según Pierik, 1990 menciona que el crecimiento y desarrollo in vitro de una planta está determinado por una serie de factores complejos como son: la constitución genética de la planta, los nutrientes (agua, macro y microelementos y azúcares), los factores físicos que influyen sobre el crecimiento (luz, temperatura, pH, concentración de O₂ y CO₂), y algunas sustancias orgánicas (reguladores, vitaminas, etc.).

5.11.3. Ventajas del sistema de micropropagación

- Ausencia de métodos de propagación convencionales o cuando estos son demasiado lentos.
- Necesidad de un alto volumen de producción.
- Disminución de la superficie dedicada a planta madre y mejor planificación de la producción. (Ramos y Rallo, 1992).

5.11.4. Desventajas del sistema de micropropagación

- **Trasplante a invernadero.** A veces las raíces formadas in vitro no son funcionales, y las hojas tienen una cutícula poco desarrollada; por consiguiente se puede producir en invernadero una transpiración excesiva que ocasiona la muerte de las plantas.

- **Vitrificación.** Es la aparición de tallos y hojas con un exceso de agua.; este problema se puede disminuir incrementando la concentración de agar, así como reduciendo la cantidad de citoquininas y de amonio del medio de cultivo.
- **Desarrollo no sincronizado de los cultivos.** La variabilidad morfológica observada en cultivos en Fase II suele ser debida a la competencia por nutrientes y espacio que tiene lugar entre los tallos que crecen en el medio de proliferación.
- **Contaminación crónica.** Aparece en cultivos que anteriormente parecían libres de agentes patógenos. Suele estar causada por bacterias y es bastante difícil de detectar, por lo que es conveniente cuando se sospecha que pueda existir este problema utilizar medios de cultivo específicos para bacterias. Este tipo de contaminación puede haber sido introducida en el explante original o posteriormente, debido al uso de técnicas de esterilización inadecuadas. (Ramos y Rallo, 1992).

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Descripción del sitio experimental

El trabajo de investigación se llevó a cabo en el área de incubación del Laboratorio de Biología general en el Departamento de Botánica de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

6.2. Preparación de medios Murashige y Skoog (1962)

Se pesó en una balanza analítica (Marca: AND; Modelo N_o: GR-120) los constituyentes de macronutrientes, micronutrientes, solución de Fierro, vitaminas, carbohidratos (cuadro 2). Todos estos reactivos se disolvieron en agua estéril desionizada dentro de un matraz Erlenmeyer (2000 ml) la cual se mantuvo agitando con un agitador-calefactor (Marca:Thermolyne CIMAREC; Modelo N_o: SP131325), luego se obtuvo la solución madre (MS al 100%), donde a partir de la solución madre se obtuvo las concentraciones de MS al 50% y MS al 25%. Posteriormente con el potenciómetro (Marca HANNA; Modelo N_o: HI 8314) y se tomó un PH de 5.7 (HCL 0.1 Disminuye PH Y NaOH 0.4 aumenta PH). Una vez tomando correctamente el PH de las diferentes concentraciones de MS se les agregó solidificante (Agar-Agar). Se taparon los matraces con película conocida comercialmente como Kleen pack, enseguida se procedió la esterilización de los medios colocándolos a una autoclave (Marca: ALLAMERICAN; Modelo N_o: 25X-1), manteniendo una temperatura de 125°C equivalente a (1 atm), durante 18 minutos. Después de la esterilización se vaciaron en las diferentes cajas Petri con diferentes concentraciones de MS en el área de siembra. Se siguió los mismos procedimientos para los medios nutritivos más la adición de 300 ppm de GA₃ para la solución madre y posteriormente la distribución para MS al 50% y 25%.

6.3. Preparación de semillas

Las semillas utilizadas en esta investigación ya tienen aproximadamente dos años de almacenamiento, colectadas alrededor de Saltillo y en General Cepeda, perteneciente al estado de Coahuila por la Biol. Sofía Comparan Sánchez.

Para tener una mejor confiabilidad de las semillas se colocaron todas en un vaso de precipitado con agua destilada dejándolo remojar 24 hrs para ver cuales semillas quedaron flotando en el agua y así descartarlas dentro del experimento, para asegurar que las semillas fueran viables, se hizo el conteo de todas las semillas que quedaron.

A continuación se describen los protocolos utilizados en esta investigación

Primer protocolo

Se colocaron 20 semillas de *Mammillaria pottsii* Scheer ex Salm-Dyck en sacos pequeños de tela magitel estéril, para tener un control de número y tamaño de las semillas

Posteriormente se llevó acabo la esterilización de las semillas que consiste en estos pasos:

- 1.-Lavado con Agua desionizada + Tween 20 por 5 minutos
- 2.-Lavado con una solución de Etanol al 20% por 1 minuto
- 3.-Lavado con hipoclorito de sodio (Cloro) al 20% por 10 minutos
- 4.-Se enjuagaron en agua desionizada estéril.

Segundo protocolo

1.- Antes de colocar las semillas en sacos pequeños se realizó un lavado previo a las semillas frotándolas suavemente, repitiendo dos veces esta misma operación al final se enjuago con agua estéril.

2.-Se colocaron todas las semillas en un vaso de precipitado con crit (desinfectante) durante 30 min en la parrilla de agitación.

3.-Enseguida se colocaron las semillas en los saquitos y se volvió a agitar en el crit durante 15 minutos más.

4.-Lavado con Agua desionizada + Tween 20 por 5 minutos

5.-Lavado con una solución de Etanol al 20% por 1 minuto

6.-Lavado con hipoclorito de sodio (Cloro) al 30% por 15 minutos

7.-Se enjuagaron en agua desionizada estéril

Tercer protocolo

1.- Se colocaron las semillas en un vaso de precipitado donde con agua de la llave y con jabón líquido para trastes se frotaron durante unos minutos y se enjuago con agua estéril al final.

2.- Se vaciaron de nuevo las semillas en un vaso de precipitado estéril donde se puso a agitar en alcohol al 5% durante una hora.

3.-Lavado con Agua desionizada + Tween 20 por 5 minutos

4.-Lavado con una solución de Etanol al 20% por 1 minuto

5.-Lavado con hipoclorito de sodio (Cloro) al 30% por 15 minutos

6.-Se enjuagaron en agua desionizada estéril

Cuarto protocolo

1.- un día antes de la siembra se puso a agitar las semillas en un vaso de precipitado con agua estéril de manera que llegara al punto de ebullición durante 30 minutos y se tapó con papel aluminio dejan reposar toda la noche con el objetivo de eliminar por completo el mucilago de las semillas.

2.- Se colaron las semillas enjuagándolas con agua esteril y se colocaron en un papel de secado, y ya se pusieron en los saquitos estéril.

3.-Lavado con Agua desionizada + Tween 20 por 5 minutos

4.-Lavado con una solución de Etanol al 20% por 1 minuto

5.-Lavado con hipoclorito de sodio (Cloro) al 30% por 15 minutos

6.-Se enjuagaron en agua desionizada estéril 2 veces

Para el método de escarificación se aforo el ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 75%, 50% y 25% manteniendo las semillas sumergidas solo 15 segundo dentro de la solución.

Todos los materiales utilizados en este proceso se esterilizaron en un autoclave (Marca: ALLAMERICAN; Modelo N_o: 25X-1) manteniendo una temperatura de 125°C equivalente a una atmosfera (1 atm), durante 1 hr.

6.3.1. Siembra

Para llevar a cabo la siembra primero se desinfectó totalmente el área de siembra manteniendo todos los materiales que se ocuparon en total asepsia por lo que

siempre estuvieron esterilizados, también se seleccionaron las cajas Petri que no estuvieran contaminadas con algún hongo, patógeno o bacterias.

Para la realización de la siembra del material seleccionado se siguieron los protocolos establecidos para este tipo de procedimientos siguiendo las normas y especificaciones necesarias.

Por último se trasladaron las cajas Petri selladas con Kleen pack al área de incubación donde se mantuvo el material en fase de germinación considerando un fotoperiodo de 24 hrs, temperatura de 28 a 30°C.

Cuadro 2.- Los componentes del medio Murashige y Skoog (1962)

Constituyentes

Macronutrientes

g/l

MM
gr/mol

NH ₄ NO ₃	Nitrato amónico	1.65	80.04
KNO ₃	Nitrato de potasio	1.9	101.1
CaCl ₂ .2H ₂ O	Cloruro de calcio monobásico	0.33217	147.014
KH ₂ PO ₄	Fosfato de potasio monobásico	0.17	136.086
MgSO ₄ .7H ₂ O	Sulfato de magnesio	0.37	246.48

Micronutrientes

KI	Yoduro de potasio	0.00083	166.086
H ₃ BO ₃	Ácido bórico	0.0062	61.83
MnSO ₄ .4H ₂ O	Sulfato de manganeso	0.012	228.0
ZnSO ₄ .7H ₂ O	Sulfato de zinc	0.0086	287.54
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	Molibdato de sódico dihidrato	0.00025	241.96
CuSO ₄ .5H ₂ O	Sulfato cúprico pentahidrato	0.00002	249.685
CoCl ₂ .6H ₂ O	Cloruro de cobalto	0.00002	239.935

Sol. Fierro

Na ₂ EDTA	Sal de sodio de ácido etilendiamico Tetraacético	0.0373	372.24
FeSO ₄ .7H ₂ O	Sulfato ferroso heptahidrato	0.0278	278.28

Vitaminas

Inositol		0.1	
Piridoxina HCL		0.0005	0.50
Tiamina HCL		0.0001	0.1
Glicina		0.002	2.0

Carbohidratos

Sacarosa		30	
----------	--	----	--

Solificante

Agar-Agar		8	
-----------	--	---	--

PH		5.7	
----	--	-----	--

GA ₃		0.3 mg/l	
-----------------	--	----------	--

Fuentes: Murashige, T. y F. Skoog (1992)

6.4. Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con 7 tratamientos (T1= MS-100% como testigo, T2= MS-100% + GA₃ (300 ppm), T3= MS-50% + GA₃ (150

ppm), T4= M5-25% + (75 ppm), T5= MS-100% + Escarificación 70%, T6= MS-50% + Escarificación 50%, T7=MS-25% + Escarificación 25%, 4 repeticiones, considerando una unidad experimental de una caja Petri con 10 semillas, teniendo un total de 280 semillas.

6.5. Variable dependiente

Se estuvo evaluando y registrando cada semilla germinada diariamente después del tercer día de la siembra, durante 30 días, obteniendo 4 muestreos considerando como variables: el porcentaje de germinación. Se calculó mediante la siguiente ecuación: $PG = (Ae \cdot 100) / M$

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la evaluación de la germinación de *Mammillaria pottsii* Scheer ex Salm-Dyck presentó problemas de germinación cuando ya estaban establecidos en cajas Petri con diferentes concentraciones de medios nutritivos más los estimuladores de germinación, por lo que se realizaron más de 4 siembras de prueba para establecer correctamente la siembra, hubo algunos factores que impidieron la germinación y a medida que se iban logrando ésta se consideraron los tratamientos. Se aplicaron 4 protocolos diferentes en diferentes fechas de siembra como se muestra en el cuadro 3. Donde se presentan los 7 tratamientos, con 4 repeticiones cada uno.

Cuadro 3.- Concentración de datos de muestreos de *Mammillaria pottsii* Scheer ex Salm-Dyck

	M1	M2	M3	M4
--	----	----	----	----

Simbología: F.S.M.P.= Fecha de siembra de *Mammillaria pottsii*, M1, MS, M3 Y

F.S.M.P. 12/04/2016					30 DDS
T1 R1	0	0	0	0	0
T1 R2	0	0	0	0	0
T1 R3	0	0	0	0	0
T1 R4	0	0	0	0	0
F.S.M.P. 23/03/2016	11/04/2016	14/04/2016	19/04/2016	23/04/2016	30 DDS
T2 R1	0	0	0	0	0
T2 R2	0	0	0	0	0
T2 R3	0	0	0	0	0
T2 R4	0	0	0	0	0
T3 R1	0	1	0	0	1
T3 R2	0	0	1	0	1
T3 R3	0	0	0	0	0
T3 R4	0	0	0	0	0
F.S.M.P. 12/04/2016					30 DDS
T4 R1	0	0	0	0	0
T4 R2	0	0	0	0	0
T4 R3	0	0	0	0	0
T4 R4	0	0	0	0	0
F.S.M.P. 29/02/2016	10/03/2016	15/03/2016	21/03/2016	29/03/2016	30 DDS
T5 R1	2	1	1	0	4
T5 R2	0	1	2	0	3
T5 R3	0	0	0	0	0
T5 R4	0	0	0	0	0
F.S.M.P. 12/04/2016					30 DDS
T6 R1	0	0	0	0	0
T6 R2	0	0	0	0	0
T6 R3	0	0	0	0	0
T6 R4	0	0	0	0	0
F.S.M.P. 29/04/2016	10/03/2016	15/03/2016	21/03/2016	29/03/2016	30 DDS
T7 R1	2	3	2	1	8
T7 R2	1	1	1	2	5
T7 R3	1	1	0	1	3
T7 R4	1	1	1	1	4

M4= Muestreos y DDS= Días después de la siembra.

Se encontró que al evaluar la germinación realizando 4 muestreos a 10 días después de la siembra en los medios la mayoría de las semillas no germinaron con excepción de los tratamientos siguientes:

T3=MS 50% + Ac. Gib. 75 ppm

T5=MS 100% + escarificación 75%

T7=MS 25% + escarificación 25%

En la figura 1, se muestran los resultados obtenidos para el tratamiento 3 en base al porcentaje de germinación la cual muestra en la R1 y R2 que alcanzaron un 10% y en R3 y R4 no hubo germinación, mientras que en la figura 2, muestran un poco más de germinación para el tratamiento 5 ya que en R1 alcanzo 40% y R1 30%, R3 y R4 no hubo, por último en donde se obtuvo el mayor número de germinación fue para el tratamiento 7 donde R1 con un 80% fue el mayor, R2 50%, R4=40% Y R3=30%.

Difieren los resultados obtenidos por Olvera (2005), al trabajar con *mammillaria glassii* obtuvo un 85% en MS-50% y MS-25% y 75% de germinación en MS-100%, en *mammillaria grusonii* encontraron el 65, 75 y 74 % de germinación a los 30 días.

También García (1993) encontró resultado de 64% de germinación en *Astrophytum miriostigma*, 56% en *Astrophytum caprinorne* y en *Echinocactus grusonii* con el 16% de germinación a los 30 días después de la siembra.

Por lo tanto se puede decir que el mejor método para establecer una buena germinación se puede encontrar en un medio MS al 25% y la escarificación con un 25 % de ácido sulfúrico nos indica que se obtienen buenos resultados.

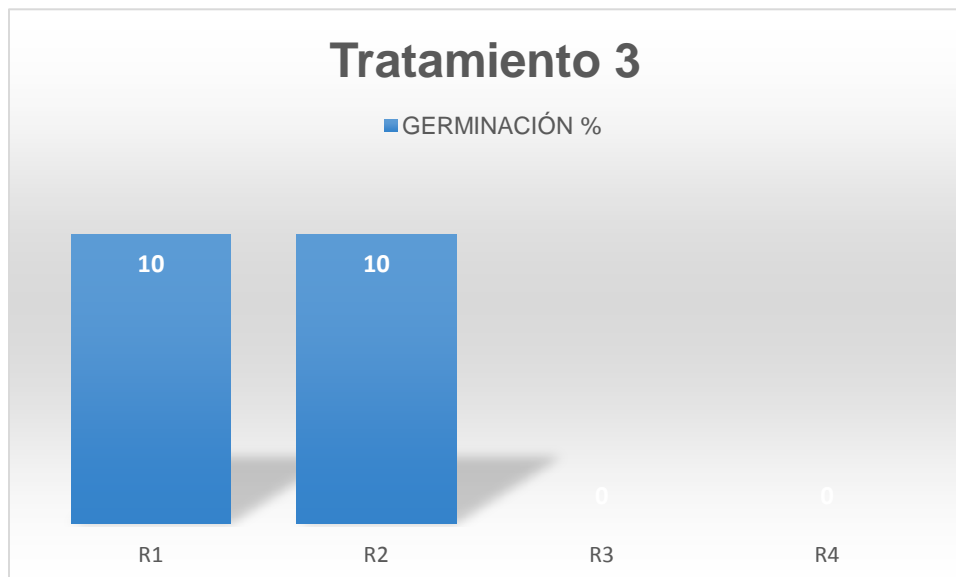


Figura 5.- Porcentaje de germinación de *Mammillaria pottsii* Scheer ex Salm-Dyck en relación al tratamiento 3 (MS 50% + Ac. Gib 75 ppm) con 4 repeticiones donde R1=10%, R2=10%, R3 Y R4= 0%.

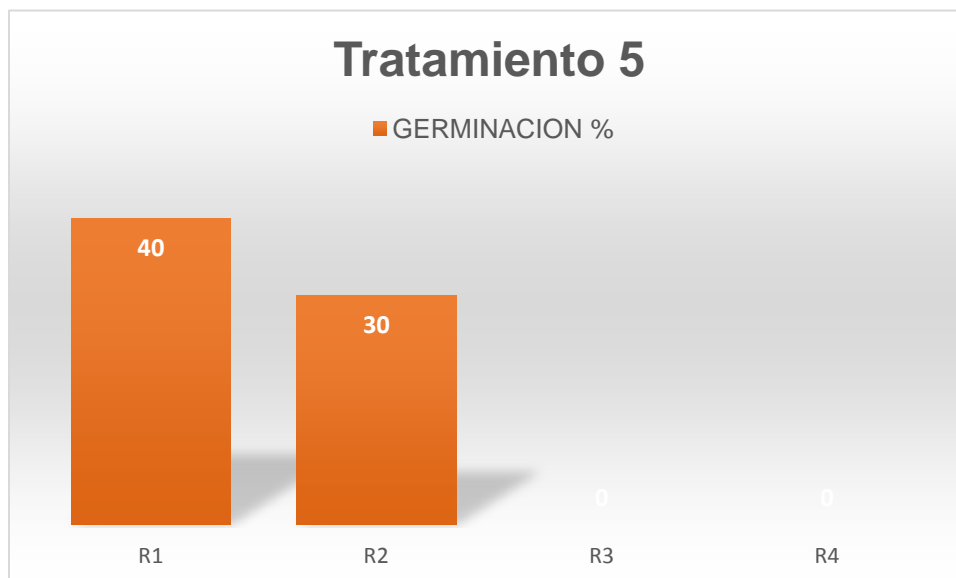


Figura 6.- Porcentaje de germinación de *Mammillaria pottsii* Scheer ex Salm-Dyck en relación al tratamiento 5 (MS 100% + Escarificación 75%) con 4 repeticiones donde R1=40%, R2=30%, R3 Y R4= 0%.

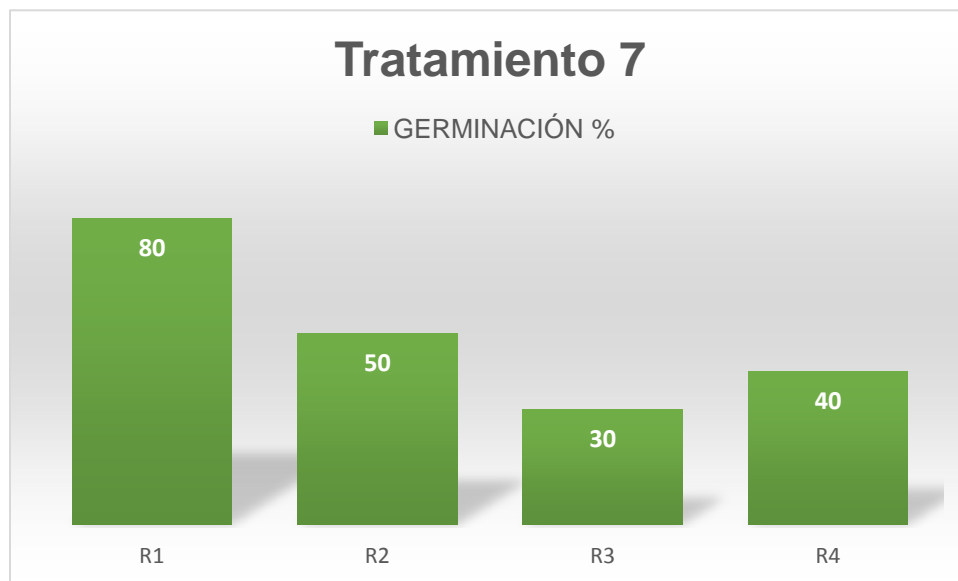


Figura 7.- Porcentaje de germinación de *Mammillaria pottsii* Scheer ex Salm-Dyck en relación al tratamiento 7 (MS 25% + Escarificación 25%) con 4 repeticiones donde R1=80%, R2=50%, R3= 30 Y R4= 4%.

Se puede deducir que para justificar por qué no se cumplieron los objetivos establecidos para este trabajo de investigación es que probablemente las semillas presentan un mecanismo de latencia más sofisticado o falta más tiempo de evaluación, es preciso mencionar que las semillas de *M. pottsii* Scheer ex Salm-Dyck que fueron utilizadas contaban ya con dos años de almacenamiento aproximadamente, para lo cual Flores y Manzanero (2003) mencionan que algunas semillas almacenadas (8 a 12 meses) del género *Mammillaria* pierden

potencial germinativo. La pérdida del potencial germinativo puede estar relacionado a la muerte del embrión debido a las condiciones de almacenamiento (altas temperaturas y sin oscuridad total) o por la inviabilidad de este.

Los resultados difieren a los obtenidos por Olvera (2005) al trabajar con esta misma especie donde tampoco se lograron resultados positivos ya que solo en el medio al 100% fue el que presento mayor numero y en menor tiempo, ya que para los DDS 1, 5 y 6 ya presentaba germinación. En el medio al 50% la germinación comenzó al día 16 y en el medio al 25% al 6 DDS.

Silverton, (1999) citado por González (2015) agrega que una prueba de germinación puede ser afectada por la forma en que son colectadas las semillas, por las condiciones ambientales en donde germina, periodos de almacenamiento, por la forma y fecha de aplicación de la prueba.

Yang, (1999) citado por González (2015) demostró que las semillas de diferentes poblaciones de una misma especie pueden presentar variaciones en sus características morfológicas y fisiológicas, y que el comportamiento de la germinación puede diferir entre regiones, debido a adaptaciones locales de clima.

Por lo anterior una estrategia importante y necesaria para la conservación de cactáceas, es lograr la reproducción de especies de manera segura, mediante el uso de cultivo de tejidos vegetales.

Para algunas especies se recomienda poner a germinar las semillas pocos días después de la colecta, debido a que éstas pueden sufrir cambios en su capacidad germinativa causados por el almacenamiento en seco (Baskin & Baskin, 1998).

Al respecto Soplin (1988) mencionaba que las condiciones de maduración, como la temperatura y humedad en que las semillas permanecen influyen en su viabilidad por lo tanto en su calidad.

El proceso de germinación de las semillas silvestres se ve claramente afectando por condiciones adversas del medio ambiente, provocando que exista diferente grado de letargo para cada una de las semillas, afectando la viabilidad y el vigor de las semillas en el proceso de germinación; lo que no sucede con las semillas de plantas cultivadas bajo condiciones controladas (Gouvéa, 1983; Besnier, 1989; Rabenda, 1990).

Por otro lado, Según Hartmann y Kester citado por Camacho (1994) para que la germinación se realice, se necesita que: a) La semilla sea viable, o sea, que tenga un embrión vivo capaz de crecer; b) se tenga la temperatura, aeración y humedad adecuada para el proceso y c) se eliminen los bloqueos fisiológicos presentes en las semillas, que impiden la germinación. Mientras que Pollock y Toole (1962), citados por Reyes (1993), mencionan que las condiciones requeridas para la germinación son: la expresión de la herencia de las semillas, influida por el medio ambiente durante la formación de la misma.

Dentro de los requerimientos de las semillas para que germinen se encuentran ciertas condiciones extrínsecas; por lo que Ruíz et al (1962) considera cuatro factores como son: humedad, temperatura, aire y luz.

VIII. CONCLUSIONES

Para *Mammillaria pottsii* Scheer ex Salm-Dyck, las semillas sembradas en medio MS al 50% + ácido giberelico 75 ppm, MS al 100% + escarificación 75% y MS al 25% + escarificación 25%, fueron los que alcanzaron un porcentaje de germinación ya que para el resto de los tratamientos no hubo germinación.

Las semillas utilizadas ya tenían dos años de almacenamiento por lo que algunos autores mencionan que esto afecta en la germinación y se recomienda el uso de semillas recién extraídas de los frutos, para así obtener altos porcentaje de germinación.

También se observó que en el método de escarificación estimulo significativamente la germinación y se recomienda su uso.

Es muy importante mencionar que de acuerdo a los resultados se comprueba que las semillas estaban contaminadas por mucilago y hongos principalmente ya que en el último protocolo utilizado comprueba que al mantenerlas en altas temperaturas la pérdida del potencial germinativo puede estar relacionado a la muerte del embrión más sin embargo eliminó cualquier tipo de hongo, mucilago y demás contaminantes presentes en las semillas. Los demás protocolos utilizados todos fueron viables, porque si se estableció la siembra sin contaminación por lo tanto quiere decir que esas semillas iban limpias contra cualquiera de los problemas mencionados anteriormente.

Entonces se puede decir también que en medio MS tiene un alto contenido de nutrientes por lo que rápidamente reflejó la contaminación al tener contacto con las semillas de *Mammillaria pottsii* Scheer ex Salm-Dyck.

IX. LITERATURA CITADA

- Arias, M., S., S. Gama López y L.U. Guzmán C. 1997. Cactácea. Flora del valle de Tehuacán-Cuicuatlán, Fascículo 14. Instituto de biología, UNAM. México.
- Araya, E; Gómez, L; Hidalgo, N; Valverde, R. 2000. Efecto de la luz y del ácido giberélico sobre la germinación in vitro de *Jaul* (*Alnus acuminata*). Agronomía costarricense 24(1):75-80.
- Arredondo, G.A. 2000. Tecnología para la Propagación de Cactáceas. Video. Ed. Fundación Produce San Luis Potosí, A.C., SIHGO, INIFAP. San Luis Potosí.
- Alanís, G.J. y Velazco-Macías C.G. 2008. Importancia de las cactáceas como recurso natural en el noroeste de México. Ciencia UANL XI (1): 5-11.
- Bravo, H. y H. Sánchez. 1978. Las cactáceas de México. Tomo 1. UNAM. México.
- Besnier, R. F., 1989. Semillas Biología y Tecnología. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España. 637pp.
- Baskin CC & Baskin JM. 1998. Seeds- Ecology, Biogeography and Evolution of Dormancy and Germination. Academic Press, USA.
- Bravo, H. y H. Sánchez-Mejorada. 1978, 1991, 1991. Las cactáceas de México. Volumen I, II y III. Universidad Autónoma de México. Pp. 755; 571, 791.

- Botanical on line. 2014. Plantas medicinales. Cactáceas.
www.botanicalonline.com/familiacactaceascastella.htm
- Camacho, M. F. 1994. Dormición de semillas causas y tratamientos. Editorial trillas. México.
- De la Vega, B. y R. Alizaga. 19987. Efecto del ácido giberélico y del preenfriamiento sobre la ruptura del reposo en semillas de salvia. *Agronomía Costarricense*. 11: 89-95.
- Delgado, E.A. 2007. Significancia taxonómica de los perfiles fenólicos de algunas especies de la familia cactácea. Tesis de posgrado. Instituto Politécnico Nacional. Victoria Durango, Durango. 85 p.
- Fahn, A. 1978. Anatomía vegetal. Ediciones H. Blume. Madrid España.
- Fuentes, FV; Rodríguez, MN; Rodríguez, FC. 1996b. La germinación de *Stephania rotunda* Lour. *Revista cubana de Plantas medicinales* 1(2):11-14
- Flores. A., y Manzanero, M. G. 2003. Germinación comparativa de especies del género *Mammillaria* endémicas de Oaxaca, México. *Sociedad Mexicana de Cactología*. Tomo XLVIII, Año 48 No. 2.
- Gouvêa, L. 1983. A germinação das sementes. Secretaria-Gral de Organização das Esyados Americanos, Washinton, D.C. 772pp.
- García, H. 1993. Estimulación de cinco especies de cactáceas consideradas en peligro de extinción. Tesis de Licenciatura. Instituto de Ciencia y Cultura A.C., Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. 61 p.
- Guzmán, U., S. Arias y P. Dávila. 2003. Catálogo de cactáceas mexicanas. Universidad Nacional Autónoma de México y Conocimiento Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. 247 P.
- González, C.A. 2015. Germinación *In vitro* de Dieciocho especies de cactáceas endémicas del Desierto Chihuahuense. Reporte de estancia. Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro. 89 p.

- Hernández, H. M. y H. Godínez. 1994. Contribución al conocimiento de las cactáceas mexicanas amenazadas. *Acta Botánica Mexicana*. 26:33-52.
- Hunt, D.R. 1999. Draft list of accepted names with their principal synonyms: *Mammillaria* and *Mammilloidia*. *Mammillaria Postscript* 7:8-20.
- Lewak, S. y A. A. Khan. 1997. Mode of Action of Gibberellic Acid and Light on Lettuce Seed Germination. *Plant Physiology*. 60: 575- 577.
- López G., J. J., R. E. Hernández V. y A. Rodríguez G. 1990. Las cactáceas de Coahuila. Resúmenes, V Congreso Latinoamericano de Botánica. Simposio Latinoamericano de Cactáceas y Suculentas. La Habana, Cuba. p.p. 212.
- López, GF; Enríquez, LC. 2004. Evaluación de diferentes métodos pregerminativos en semillas de *Dalea lutea* (cav.) Willd. Tesis Licenciatura de ingeniero agrónomo. Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, Estado de México. 67 p.
- Marroquín J., G. Borja L., R. Velásquez C., J. A. de la Cruz C. 1964. Estudio ecológico dasonómico de las zonas áridas del norte de México. Publicación Especial No. 2. INIF-SAG, México D. F. México. 166 p.
- Moreno, N. P. 1984. Glosario Botánico Ilustrado. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos, Veracruz, México.

- Martínez, J. G. 1998. Inventario Florístico del Estado de Tamaulipas. Universidad Autónoma de Tamaulipas. Instituto de Ecología Aplicada. Informe Final SNIB-CONABIO Proyecto No. P120, México, D.F.
- Mandujano, M. C., J. Globov y M. Rojas. 2007. Efectos del ácido giberélico en la germinación de tres especies del género *Opuntia* (cactáceae) del desierto Chihuahuense. *Cactáceas y suculentas mexicanas*. 52 (2): 47-52.
- NORMA Oficial Mexicana. 2010. NOM-059-SEMARNAT-2010. Protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestre-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-lista de especies en riesgo. *Diario Oficial*. 78 p.
- Pérez, L. H. 1990. Efecto de los bioestimuladores Biozyme T.S y Biozyme P. P., sobre la emergencia y principios de desarrollo en Maíz (*Zea mays*), frijol (*Phaseolus vulgaris*) y trigo (*Triticum aestivum*). Tesis de licenciatura. U.A.A.A.N. Saltillo, México.
- Olvera, C. 2005. Germinación de las especies *Mammillaria glassii* (Foster), *Mammillaria grusonii* (Ruenge) y *Mammillaria pottsii* Scheer ex Salm-Dyck del Estado de Coahuila, mediante la técnica de escarificado y siembra en medio MS y cajas Petri. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. 76 p.
- Pierik, R. L. M. 1990. Cultivo in vitro de las Plantas Superiores. Ediciones Mundi-Prensa. España. Pag.15, 35, 49.

- Rabenda, I. 1990. Breaking dormancy in cactus seed. *Cactus and Succulent Journal*, 62 (2):86-94.
- Ramos, E y Luis Rallo. 1992. nueva horticultura: tecnología y economía de los sistemas hortícolas intensivos. Ediciones mundiprensa. Madrid, España.
- Reyes, R.1993. Latencia de Semillas: Mecanismo de Control y Métodos de rompimiento. Monografía. U.A.A.A.N. Saltillo Coah. México.
- Rojas, M. y M. Rovalo. 1985. Fisiología Vegetal Aplicable. Mc. Graz Hill, México. 302 p.
- Rodríguez, L. R. 1997. Rompimiento de la latencia en semillas de *Echinocactus platyacanthus* link, mediante remojo y escarificación con ácido sulfúrico. Tesis de licenciatura. U.A.A.A.N. Saltillo Coah. México.
- Ruiz, O. M., D. Nieto., R. Larios. 1962. Tratado elemental de Botánica. Ed. Cient. Latino Americana. México.
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Ed. LIMUSA, Méx. 432 p.
- Salisbury, F. B. 1994. Fisiología Vegetal. Grupo Editorial Iberoamerica. México
- Sánchez, J., J. Flores & E. Martínez. 2006. Efecto del tamaño de semilla en la germinación de *Astrophytum myriostigma*. *INTERCIENCIA*; 31(5):371-37.
- Salas, L.R, R. Foroughbackch, M. L. Díaz-Jiménez, M. L. Cárdenas-Ávila, A. Flores-Valdez. 2011. Germinación in vitro de cactáceas, utilizando zeolita como sustrato alternativo. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3: 565-575.

- SINAREFI. 2004. Red de ornamentales. Plan estratégico. SNICS-SINAREFI. México D. F., 57 p.
- Soplin, H. 1988 Factores que afectan el potencial de almacenamiento de las semillas. Monografía «Conservación y uso de los recursos genéticos» INIA LIMA PERU.
- Villavicencio, E. E. 1998. Cultivo *in vitro* de dos especies de cactáceas *A. myriostigma* y *A. capricorne* Diertr. Britton y Rose amenazadas de extinción. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillos, Texcoco, Edo. Méx. 115 p.
- Villareal, J.A. 2001. Listado Florístico de México. XXIII. Flora de Coahuila. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. 137p.
- Villavicencio, E., A. Villegas y C. López. 2006. Germinación y multiplicación *in vitro* de *Astrophytum myriostigma* Lem. (Cactácea amenazada de extinción). Nota Científica. XVIII Congreso Nacional de Fitomejoramiento del 15 al 20 de Octubre. Irapuato, Guanajuato, México. 83 pp.
- Zaldívar, P., A. Laguna, F. Gutiérrez y M. Domínguez. 2010. Ácido giberélico en la germinación de *Jaltomata procumbens* (Cav.) J.L. Gentry. Agronomía Mesoamericana. 21(2): 327-331.

