

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

DIVISION DE AGRONOMIA

DEPARTAMENTO DE BOTANICA



Germinación de dos especies e inducción de brotes *in vitro* de tres especies de cactáceas en estatus de riesgo del estado de Coahuila.

POR:

ADRIANA MARTINEZ ESTRELLA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGIA

Saltillo, Coahuila, México. Octubre de 2011

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO

DIVISION DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE BOTANICA

**Germinación de dos especies e inducción de brotes *in vitro*
de tres especies de cactáceas en estatus de riesgo del
estado de Coahuila.**

Por:

Adriana Martínez Estrella

Presentada como requisito para obtener el Título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGIA

Aprobada por:



M.C. Sofía Comparán Sánchez
Presidente del Jurado


Dr. Leobardo Bañuelos Herrera

Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México. Octubre 2011

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO

División De Agronomía
Departamento De Botánica

Germinación de dos especies e inducción de brotes *in vitro* de
tres especies de cactáceas en estatus de riesgo del estado de
Coahuila.

POR:

Adriana Martínez Estrella

TESIS


Presentada como requisito parcial para obtener el Título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGIA

Aprobada

Asesor principal

Director Principal Externo

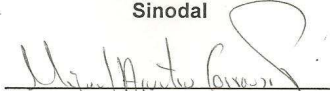


M.C. Sofía Comparán Sánchez

M.C. E. Edith Villavicencio Gutiérrez

Sinodal

Sinodal



M.C. Laura María González Méndez

Biol. Miguel A. Carranza Pérez

Coordinador De La División De Agronomía



Dr. Leobardo Bañuelos Herrera

Saltillo, Coahuila, México. Octubre 2011



Coordinación
División de Agronomía

“Cuando una persona realmente desea algo, el Universo entero conspira para que realice sus sueños. Así sucede si aprendemos a escuchar la voz del corazón y comprendemos aquel lenguaje que trasciende las palabras, el que muestra aquello que los ojos no pueden ver.”

Paulo Coelho.

DEDICATORIA

A Dios:

Por haberme dado la oportunidad de concluir una etapa más de mi vida y por no dejarme en los momentos más difíciles.

A mis padres:

Ma. Matilde Estrella Miranda

Ricardo Martínez Estrella

Gracias por haberme dado la vida, por confiar en mí en cada etapa de mi vida sobre todo cuando estuve por mucho tiempo fuera de casa, porque siempre estuvieron ahí cuando más los necesite, por su apoyo moral e incondicional que siempre tuvieron conmigo, por la orientación y los buenos consejos que me dieron para tomar decisiones en el trayecto de mi vida, queriendo siempre lo mejor para mí, por intervenir en cada uno de mis sueños. Esto es lo que hasta ahora han logrado con sus buenos ejemplos... Gracias les doy infinitamente. Con todo el cariño y amor. Es para ustedes.

A mis hermanos:

Hugo (Hugi's) *Gracias por todo el apoyo que me brindaste durante mi desarrollo profesional, por los buenos consejos que me dabas ya que como hermano querías lo mejor para mí, porque siempre estuviste conmigo. T.Q.M. Manito.*

Lizandro (Liz) *Gracias por escucharme cuando más lo he necesitado, por todo el apoyo incondicional que siempre me has brindado y por poner tu granito de arena para que pudiera concluir con mi formación profesional, mis mejores deseos para ti. T.Q.M. San.*

Emma (Emyta) *Gracias por el apoyo que siempre me has brindado, que a pesar de la distancia me deseabas lo mejor. Tus sacrificios ya tendrán su recompensa. T.Q.M. Emy's.*

Gabriela (Gaby) Gracias por el apoyo que siempre me has brindado y por el sacrificio que hiciste para que pudiera salir adelante. T.Q.M. Gabriel.

A mis abuelitos:

Antonio Estrella

Alfonso Martínez

Eusebia Miranda

Manuela Estrella

Por todo el apoyo que me brindaron durante mi lejanía, por todas las oraciones brindadas para que me fuera bien en mi camino y en mis estudios. Gracias que Dios los bendiga siempre...

A mi familia en general:

Tíos y primos, por sus buenos deseos, por los consejos que siempre me dieron y por las oraciones que algún día hicieron por mí para que me fuera bien en mi camino y mis estudios.

A mi novio:

Mariano Nanduca López. Por todo el apoyo que me brindo a lo largo de mi carrera profesional, por la confianza y la paciencia que me ha tenido; por su cariño, su amor que me ha dado y por todos los bellos momentos que hemos compartido juntos. Le doy Gracias a Dios por haberte puesto en mi camino. **TE AMO.**

A la familia Martínez Valero (Berenice, Claudia y Tío Cirilo): Por su apoyo moral e incondicional que me brindaron durante mi estancia en la Universidad, por sus palabras de aliento y buenos consejos que me brindaron para seguir adelante en mi desarrollo profesional. Gracias...

AGRADECIMIENTOS

*A la **Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”** por abrirme sus puertas y haberme dado la oportunidad de formarme profesionalmente día con día, me llevo de ella la mejor cosecha que cualquiera pudiera esperar... su conocimiento. Además el orgullo de ser un Buitre, que emprende su vuelo para enfrentar los caminos de la vida.*

*Al **Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)** Campo Experimental Saltillo, por haberme dado la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo y así mismo aplicar los conocimientos adquiridos, en mi estancia durante el curso de BOT-490 de prácticas profesionales. Además por haberme permitido trabajar en las instalaciones del Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales, por facilitarme el material necesario para la realización de este trabajo.*

*Al **Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (SNICS-SINAREFI)**, y a la **Red Cactáceas** por el interés en la conservación *ex situ* de los recursos fitogenéticos de uso ornamental.*

*A la **Biol. Sofía Comparan Sánchez** por su amistad incondicional, por su paciencia y comprensión, por su entera colaboración en la realización de este trabajo ya que sin su ayuda esto no hubiera sido posible.*

*A la **M. C. E. Edith Villavicencio Gutiérrez** por darme la oportunidad de realizar mis prácticas profesionales en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Campo Experimental Saltillo CIRNE-INIFAP. Por la confianza, la paciencia y total dedicación, pero sobre todo por su atenta colaboración en la realización de este trabajo.*

*A la **M.C. Laura María González Méndez** por sus valiosas sugerencias en la elaboración de este trabajo.*

*A la **Biol. Teresa Rodríguez** por su apoyo y disposición para formar parte de este trabajo.*

*A T. L. **Graciela González Ramírez** por su amistad brindada durante mi estancia, por su confianza y apoyo brindado en el laboratorio.*

*A T. L. **Angélica Martínez** por su valiosa amistad, cariño y comprensión por las palabras de aliento que siempre me dio y que me ayudaron a seguir adelante. Mil gracias...*

A mis compañeros de generación que siempre estuvieron compartiendo buenos momentos. Que a pesar de que con algunos no convivimos mucho siempre se preocuparon por mí, por todo eso y mucho mas. Gracias...

A mis amigas Marely, Rosalía del Carmen y Valeria que siempre me brindaron su amistad incondicional, que estuvieron conmigo en todo momento y me apoyaron en mi formación profesional, por todos aquellos momentos que compartimos y también por los malos ratos que pasamos.

A todos aquellos que me ayudaron en mi formación profesional. Gracias...

CONTENIDO

INDICE DE CUADROS

INDICE DE FIGURAS

RESUMEN

1. INTRODUCCION.....	1
1.1 OBJETIVOS	3
1.2 HIPOTESIS	3
2. REVISION DE LITERATURA.....	4
2.1 Importancia de las Cactáceas	4
2.2 Características morfológicas de las cactáceas.....	5
2.2.1 Raíz	5
2.2.2 El vástago	6
2.2.3 Hojas	6
2.2.4 Tubérculos	6
2.2.5 Costillas	7
2.2.6 Areolas.....	7
2.2.7 Espinas.....	7
2.2.8 Tallo	8
2.2.9 Inflorescencia y Cefalios.....	8
2.2.10 Flor	9
2.2.11 Fruto	9
2.2.12 Semillas	10
2.3 Descripción de <i>Coryphanthas</i>	11
2.3.1 Clasificación Taxonómica <i>Coryphantha poselgeriana</i> var. Saltillensis Lem.....	11
2.3.2 Clasificación Taxonómica <i>Coryphantha speciosa</i> Lem.....	13
2.4 Descripción de <i>Epithelantha</i>	15
2.4.1 Clasificación Taxonómica <i>Epithelantha micromeris</i> Engelm.....	15
2.5 Descripción de <i>Turbinicarpus</i>	17
2.5.1 Clasificación Taxonómica <i>Turbinicarpus knuthianus</i> Boed.....	17
2.5.2 Clasificación Taxonómica <i>Turbinicarpus valdezianus</i> Moell.	19
2.6 Propagación de cactáceas	20
2.7 Semilla	21

2.8 Germinación.....	22
2.8.1 Factores que interfieren en la germinación.....	23
2.9 Micropropagación.....	24
2.9.1 FASE 0: Preparación de la planta madre	26
2.9.2 FASE I: Establecimiento del cultivo en condiciones de asepsia: ..	26
2.9.3 FASE II: Multiplicación de brotes:	27
2.9.4 FASE III: Enraizamiento:.....	28
2.9.5 FASE IV: Aclimatación:.....	29
2.10 Cultivo <i>in vitro</i>	31
2.11 Manejo de las vitroplantas.....	31
2.12 Selección del medio de cultivo	32
2.12.1 Medio de cultivo.....	32
2.12.2 Compuestos del medio nutritivo.....	32
2.12.3 Sales inorgánicas	33
2.12.4 Compuestos orgánicos	33
2.12.5 Vitaminas	33
2.12.6 Fuentes de carbono	33
2.12.7 Fitoreguladores.....	33
3. MATERIALES Y METODOS.....	35
3.1 Localización del experimento	35
3.2 Material biológico	35
3.3 Características del Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales	35
3.3.1 Sala de lavado	35
3.3.2 Sala de preparación de medio y material vegetativo	35
3.3.3 Sala de siembra y disección	35
3.3.4 Sala de incubación	36
3.4 Almacén	36
3.5 Preparación del medio MS (Murashige y Skoog, 1962)	36
3.6 Procedimiento experimental.....	38
3.6.1 Germinación	38
3.7 Parámetros evaluados	40
3.7.1 Germinación	40
3.7.2 INDUCCION DE BROTES.....	41
3.7.3 Evaluación de inducción de brotes	43

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
4.1. GERMINACIÓN.....	45
4.1.1. PORCENTAJE DE GERMINACION	45
4.1.2. Velocidad de germinación.....	47
4.2 INDUCCION DE BROTES.....	49
4.2.1 Inducción de Brotes en <i>Epithelantha micromeris</i>	49
4.2.2 Inducción de brotes en <i>Turbinicarpus knutianus</i> Boed.	53
4.2.3 Inducción de brotes en <i>Turbinicarpus valdezianus</i> Moell.	57
5. CONCLUSIONES	61
6. LITERATURA CITADA	63
7. APENDICE	76
8. ABREVIATURAS	78

INDICE DE CUADROS

Cuadro

1. Componentes del medio MS (Murashige and Skoog, 1962).
2. Porcentaje de germinación de *C. poselgeriana* var. *saltillensis* Engelm. Primera y Segunda evaluación.
3. Porcentaje de germinación de *C. speciosa* Engelm. Primera y Segunda evaluación.
4. Tasa de multiplicación de *E. micromeris* Engelm.
5. Significancia de las variables Número (NB) y Altura (AL) de brotes de *T. knutianus* en la etapa de multiplicación en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del CESAL.
6. Influencia de las fitohormonas en el Número (NB) y Altura (AL) de brotes de *T. knutianus* en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del CESAL.
7. Tasa de multiplicación de *T. knutianus* Boed.
8. Significancia de las variables Número (NB) y Altura (AL) de brotes de *T. valdezianus* en la etapa de multiplicación en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del CESAL.
9. Influencia de las fitohormonas en el Número (NB) y Altura (AL) de brotes de *T. valdezianus* en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del CESAL.
10. Tasa de multiplicación de *T. valdezianus* Moell.

INDICE DE FIGURAS

Figura

1. *Coryphantha poselgeriana* var. *saltillensis* Engelm.
2. *Coryphantha speciosa* Engelm.
3. *Epithelantha micromeris* Engelm.
4. *Turbinucarpus knutianus* Boed.
5. *Turbinicarpus valdezianus* Moell.
6. Partes que conforman la semilla.
7. Desinfección de las semillas de *Coryphantha* sp.
8. Evaluación de germinación.
9. Inducción de Brotes.
10. Evaluación de Inducción de brotes.
11. Velocidad de germinación de *C. poselgeriana* var. *saltillensis* Engelm. En diferentes medios de cultivo MBG (T1 = MS al 100 %; T2 = MS al 50 % y T3 = MS al 25 %).
12. Velocidad de germinación de *C. speciosa* Engelm. En diferentes medios de cultivo MBG (T1 = MS al 100 %; T2 = MS al 50 % y T3 = MS al 25 %).
13. Brotes obtenidos en la etapa de multiplicación de *E. micromeris* Engelm.
14. Comparación de medias para Número de Brotes/Explante de *E. micromeris* Engelm. En medio adicionado con diferentes concentraciones de fitohormonas.
15. Brotes obtenidos en la etapa de multiplicación de *T. knutianus* Boed.

16. Comparación de medias para Número de Brotes/Explante de *T. knutianus* Boed. En medio adicionado con diferentes concentraciones de fitohormonas.
17. Brotes obtenidos en la etapa de multiplicación de *T. valdezianus* Moell.
18. Comparación de medias para Número de Brotes/Explante de *T. valdezianus* Moell. En medio adicionado con diferentes concentraciones de fitohormonas.

RESUMEN

En la Conservación *ex situ* se promueve la preservación de cactáceas, desarrollando métodos de regeneración *in vivo* e *in vitro*. En la regeneración *in vitro* se aplicaron las técnicas de Cultivo de Tejidos Vegetales para promover la germinación de *C. poselgeriana* var. *saltillensis* Engelm. y *C. speciosa* Engelm. y la inducción de brotes de *E. micromeris*, *T. knutianus* y *T. valdezianus*.

La FASE I: Establecimiento del cultivo en condiciones de asepsia (siembra y germinación) se realizó en dos especies del genero *Coryphantha* (*C. poselgeriana* var. *saltillensis* Engelm. y *C. speciosa* Engelm.) en el Laboratorio de Biología del Departamento de Botánica de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, encontrando que existen diferencias en la germinación *in vitro* entre especies del mismo género. El medio MBG (MS al 100 %) es el que promueve la germinación de *Coryphantha poselgeriana* var. *saltillensis* registrando un porcentaje de germinación *in vitro* de 86 %; mientras que con *Coryphantha speciosa* el porcentaje de germinación fue menor (35 %) con el MBG (MS al 25 %).

La FASE II: Multiplicación de brotes se realizó con las especies *E. micromeris*, *T. knutianus* y *T. valdezianus* en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Campo Experimental Saltillo CIRNE-INIFAP ubicado en la carretera 57 Saltillo-México en la Ciudad de Saltillo, Coahuila, encontrando que entre especies existen diferencias en el tratamiento que promueve la inducción de brotes. Con *Epithelantha micromeris* la relación cinetina (Kin)-ácido indolbultírico (AIB) y bencilaminopurina (BA)-ácido indolbultírico (AIB) en diferente proporción promueven un mayor número de brotes. El MIB adicionado con 1.2 mM de Kin + 1.03 x μ M de AIB genero la mayor tasa de multiplicación, registrando 15 brotes/explante con una altura promedio de 3 mm. A diferencia 0.7 mM de BA + 0.06 x μ M de AIB en donde se generaron 11 brotes/explante con una altura promedio de 6 mm.

Con *Turbinicarpus knutianus* la relación cinetina (Kin)-ácido indolbultírico (AIB) y bencilaminopurina (BA)-ácido indolbultírico (AIB) en diferente proporción promueven el desarrollo de un mayor número de brotes *in vitro*. El MIB adicionado con 0.69 mM de Kin + 0.061 μ M de AIB generaron una tasa de multiplicación promedio 9 brotes/explante con una altura de 5 mm. A diferencia del MIB adicionado con 4.4 mM de BA + 0.41 x μ M de AIB del que se obtuvieron en promedio 11 brotes/explante con una altura de 3 mm.

La relación cinetina (Kin)-ácido indolbultírico (AIB) y bencilaminopurina (BA)-ácido indolbultírico (AIB) adicionada al MIB tienen en ambos casos un efecto positivo en la inducción de brotes de *Turbinicarpus valdezianus*. Con esta especie se obtuvieron resultados estadísticamente iguales en el MIB adicionado con 1.16 mM de Kin + 0.10 μ M de AIB y 2.2 mM de BA + 0.20 x μ M de AIB generando una tasa de multiplicación promedio 10 brotes/explante con una altura superior a 6 mm.

Palabras clave: Germinación *in vitro*, Inducción de Brotes, *Coryphantha poselgeriana* var. *saltillensis*, *Coryphantha speciosa*, *Epithelantha micromeris*, *Turbinicarpus knutianus*, *Turbinicarpus valdezianus*.

1. INTRODUCCION

Las regiones áridas y semiáridas cubren aproximadamente el 40 % de la superficie de la Tierra. En México, estas zonas ocupan el 52.5 % de la superficie total del país (Pimienta-Barríos, 1999). Una de las familias que representa mejor a la flora de esta región son las cactáceas; se caracterizan por su peculiar adaptación a la escasez de agua (Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yáñez, 2000).

Las cactáceas son una familia vegetal originaria del Continente Americano, en México se reconocen 669 especies y 244 subespecies, de éste total 518 especies y 206 subespecies son endémicas de nuestro país. Challenger (1998) reporta que en las zonas áridas y semiáridas del norte y centro del país existe el mayor número de géneros de los cuales el 82 % son endémicos.

El estado de Coahuila es considerado uno de los más importantes a nivel mundial en cuanto a riqueza botánica, es una entidad que se caracteriza por presentar una topografía formada por montañas, planicies, bolsones y valles, los cuales cubren una superficie de 152 000 km², en donde se distribuyen más de 200 especies de cactáceas y otras suculentas algunas incluidas en el apéndice de la NOM-059-SEMARNAT-2010 debido al estatus de riesgo en el que se encuentran (amenazada, en peligro de extinción y raras o vulnerables) (Bauer y Hernández, 2004).

Flores (2005) reporta en un diagnóstico realizado acerca del estatus ecológico de las especies, que se ha perdido el 15 % de la flora nativa del Estado, y que entre las características más importantes que presentan las cactáceas es su capacidad para soportar la radiación solar directa y su lento crecimiento (Cruz-Hernández, 1997; Martínez-González, 1997).

Las cactáceas son fanerógamas y dicotiledóneas es decir, producen flores, frutos y semillas. Presentan flores bisexuadas (en algunos casos unisexuadas), y la mayoría de ellas requieren de fecundación cruzada para

producir semillas aunque algunas especies son auto fértiles. El potencial de uso que guardan las cactáceas es muy variado y se remonta a épocas anteriores a la llegada de los españoles, quienes las utilizaban como alimento, cercos vivos y su uso más común es el de plantas ornamentales.

El impacto del hombre hacia estas especies y su hábitat es muy importante, porque han sido afectadas de diversas formas como; el crecimiento de las zonas industriales, urbanas, agrícolas y ganaderas, mismas que han deteriorado el hábitat al que están adaptadas y por consiguiente se ha perdido una gran diversidad de cactáceas que son endémicas.

Con el propósito de conservar esta diversidad genética se han implementado estrategias de conservación *in situ* y *ex situ* en la Red Cactáceas del SNICS-SINAREFI. La **Conservación *ex situ*** promueve la preservación de las cactáceas, desarrollando métodos de regeneración *in vivo* e *in vitro* para las especies y subespecies de esta familia botánica. En la regeneración *in vitro* se aplican técnicas de Cultivo de Tejidos Vegetales para generar protocolos de micropropagación para especies en estatus de riesgo, ampliando las actividades de conservación en jardines botánicos, colecciones núcleo y de trabajo.

Con el propósito de contribuir con la conservación *ex situ* en la presente tesis se utilizó el Cultivo de Tejidos Vegetales para promover la germinación y la inducción de brotes *in vitro* de *E. micromeris*, *T. knutianus* y *T. valdezianus*.

1.1 OBJETIVOS

Evaluar la respuesta germinativa *in vitro* de *Coryphantha poselgeriana* var. *saltillensis* y *Coryphantha speciosa* en diferentes concentraciones del medio base de germinación (MBG).

Promover la inducción de brotes de *Epithelantha micromeris*, *Turbinicarpus knutianus* y *Turbinicarpus valdezianus* evaluando en el MIB (Medio Inducción de Brotes) diferentes concentraciones de citosina-auxina.

1.2 HIPOTESIS

El MBG influye en la respuesta germinativa de las especies de *Coryphantha sp.*

La inducción de brotes de *Epithelantha micromeris*, *Turbinicarpus knutianus* y *Turbinicarpus valdezianus* está influenciada por la concentración de citosina-auxina del MIB.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 Importancia de las Cactáceas

La importancia de las cactáceas data desde la época prehispánica. Esto se deduce en los usos tradicionales que van desde nuestros antepasados y que persisten hasta nuestros días (Bravo *et al.*, 1978; Nobel, 1998).

Las cactáceas han tenido una amplia diversidad de usos; consumo humano utilizado raíces, tallos, hojas, flores, frutos y semillas, como alimento para animales, uso medicinal y para ornato (Bravo *et al.*, 1991).

En el desierto Sonorense crece una especie de cactácea, *Neoevansia striata* de la cual se puede aprovechar la raíz (Sánchez, 1998). Los tallos, llamados nopalitos, con frecuencia son utilizados en la elaboración de múltiples platillos (Sánchez, 1998). Las hojas carnosas de algunas especies de *Pereskia* se utilizan como alimento humano preparadas al igual que los nopalitos (Bravo *et al.*, 1991).

Las flores son empleadas por los campesinos como un alimento de subsistencia en épocas de sequía. Las especies utilizadas son: *Opuntia*, *Myrtillocactus*, *Echinocereus* y *Ferocactus* (Bravo *et al.*, 1991). La sobre colecta excesiva ha provocado el deterioro de sus poblaciones y en algunas especies acelerado su extinción (Vovides, 1981).

Los frutos que producen las cactáceas y que pueden ser utilizados por el hombre son las tunas y las pitahayas, mismos que pueden obtenerse de los géneros: *Pereskia*, *Opuntia*, *Hylocereus*, *Escontria*, *Heliabrava*, *Pachycereus*, *Stenocereus*, *Carnegiea*, *Machaerocereus*, *Neobuxbaumia*, *Myrtillocactus*, *Polaskia*, *Echinocereus*, *Ferocactus* y *Mammillaria* (Bravo *et al.*, 1991).

Todas las semillas son comestibles, pero debido a su dureza y tamaño pequeño, pocas veces se utiliza para consumo (López *et al.*, 1977; Bravo *et al.*, 1991).

Respecto al uso medicinal, las cactáceas se han usado por sus propiedades farmacológicas o bien por sus cualidades “mágico-advinatorias” que les han sido atribuidas por Chamanes, Brujos o Sacerdotes en prácticas médico-religiosas. Otros usos que se le atribuyen es el de proteger y mejorar el suelo, funciona como combustible y material de construcción (Bravo *et al.*, 1991; García, 2001).

Otros usos que se le atribuyen es el de proteger y mejorar el suelo, funciona como combustible, material de construcción así como ornato y artesanal (Bravo *et al.*, 1991).

2.2 Características morfológicas de las cactáceas

Según Bravo (1978), la morfología de las plantas proporciona indicadores de las condiciones del medio en que viven. Sus características más importantes las han adquirido por herencia de los caracteres de su línea evolutiva y otras parecen haber derivado de tendencias evolutivas más recientes. Estas dos clases de caracteres morfológicos han sido distinguidas, a veces, como caracteres de organización y de adaptación.

2.2.1 Raíz

La raíz principal es el órgano fijador de la planta en el suelo, la cual procede de la radícula del embrión, así como las secundarias intervendrán principalmente en el proceso de absorción. (Paredes *et al.*, 2000).

Desde el punto de vista fisiológico, la raíz principal constituye el sistema de fijación, pues se introduce verticalmente en el suelo y su desarrollo es proporcional al tamaño. La fuerza de tracción del vegetal, y las raíces secundarias intervienen particularmente en la absorción, pues la longitud que alcanzan, la profundidad a la que llegan y el grado de ramificación que tienen, está en relación con el factor humedad y con las demás características del suelo.

El sistema de absorción tiene entonces que adaptarse para captar el agua con rapidez, caracterizándose tanto para su extraordinaria ramificación como por la gran longitud que alcanza, extendiéndose horizontalmente a la profundidad mínima de 1.5 a 5 cm bajo la superficie del suelo. En la época de lluvias se forma la extremidad de estas raíces secundarias, el verdadero sistema de absorción, el cual consiste en numerosas raicillas blancas provistas de pelos absorbentes que son caducas, pues su vida se limita a la temporada lluviosa, marchitándose después (Olvera, 2005).

2.2.2 El vástago

El vástago de las cactáceas consta de tallo, hojas tectriles y yemas en algunos géneros como *Pereskia*, *Pereskiaopsis* y *Quiabentia*, en las demás existen grandes modificaciones: el tallo adquiere una gran reducción tanto en longitud de los entrenudos como en la ramificación. El limbo, peciolo y la base de las cactáceas sufren cambios anatómicos, la base se engruesa y crece transformándose en un podadio o tubérculo, el peciolo se atrofia y el limbo se reduce considerablemente. Las yemas axilares, están representadas por areolas, que son órganos muy peculiares, además de producir nuevos brotes y flores, dan origen a espinas, cerdas, gloquideas y lana.

2.2.3 Hojas

La mayoría de las cactáceas carecen de hojas o son de tamaño reducido y caedizo, no son grandes porque esto las llevaría a tener una gran pérdida de agua.

2.2.4 Tubérculos

Durante el desarrollo de la planta, el meristemo de la yema cotiledonar apical, forma los podadios y tubérculos (base hipertrofiada de las hojas), que se ordenan en series espiraladas acropetaladas, cuyo número filotaxico es de 5, 8, 13, 21 o 34; en las plantas ya desarrolladas los tubérculos viejos se encuentran en la base del tallo y los nuevos los encontramos en el ápice. El tamaño, forma y consistencia de los tubérculos son variables: son casi esféricos, digitiformes, foliares, cónicos o prismáticos (Barthlott, 1979).

2.2.5 Costillas

Las costillas provienen de los podadios de la yema apical de la plántula que se ordenan en series ortósticas verticales. El número de costillas es muy variable, desde 2 hasta 100 costillas que van aumentando con el paso de los años.

La forma también varía, hay costillas muy angostas, de arista aguda o ancha, en ocasiones altas o muy prominentes, plegadas u onduladas.

2.2.6 Areolas

Las areolas son los órganos muy característicos de las cactáceas, actualmente se les considera como yemas. Estas forman hojas reducidas, flores, nuevos tallos, espigas, gloquídeas, cerdas y pelos en algunos casos raíces adventicias. Al centro de las areolas en casi todas las especies existe un meristemo de crecimiento integrado por dos porciones, la abaxial o extrema, que forma las espinas y la adaxial que origina las flores (Barthlott, 1979).

2.2.7 Espinas

Las espinas particularmente son hojas modificadas, conforman los órganos más característicos de las cactáceas. En ocasiones faltan como lo son en *Lophophora*, *Aztekium*, *Epiphyllum*, *Opuntia*, entre otros.

Las espinas se forman a expensas de los tejidos meristemáticos de las areolas de la misma manera que las hojas; su crecimiento se debe a un meristemo que existe en su base y el endurecimiento a un proceso de lignificación.

En las cactáceas existen tres tipos de espinas las gruesas, suaves y glandulares (Ganong, 1894). Las gruesas varían por su situación en las areolas, forma, tamaño, consistencia, color y número; las formas más comunes son: setosa, acicular, cónica, cilíndrica, aplanada, recta, curva, retorcida, ganchuda y plumosa, con superficie lisa o con estrías longitudinales o transversales; pueden ser opacas o translúcidas; desnudas o cubiertas con vainas papiráceas; pequeñas como de 1 mm o largas de 30 mm, de consistencia flexible o muy rígidas.

Existen dos tipos de espinas con respecto a su situación en las areolas, unas llamadas **radiales** que son más cortas y delgadas, dispuestas en la periferia y las **centrales** que son más largas y gruesas. La espinación en las areolas, es constante en todos los números de una misma especie. Esta representa una función primordial para la supervivencia, defender a la planta de la acción destructora de los animales, protegerla de los rayos del sol por medio de la sombra que proyectan sobre el tallo, impide la excesiva transpiración y condensa el agua atmosférica para que pueda penetrar en los parénquimas. (Olvera, 2005).

2.2.8 Tallo

El cuerpo varía mucho en tamaño y forma según la especie, mientras que algunas cactáceas apenas sobresalen del suelo. Ballester, 1978, menciona que el género *Mammillaria* son plantas de reducido tamaño, este les permite protegerse mejor de la radiación del sol y de los vientos; mientras que otras alcanzan varios metros de altura, por ejemplo los que corresponden al género *Echinocactus* son de mayor porte, lo que les permite guardar una mayor cantidad de agua. Los tallos tienen formas muy diversas pero constantes para cada entidad taxonómica, esto es el resultado de muchos años de evolución, con la finalidad de adaptarse al medio ambiente, sobrevivir y perpetuarse como especie.

2.2.9 Inflorescencia y Cefalios

En las cactáceas las inflorescencias han sufrido una gran reducción como resultado de la adaptación al medio seco. En algunos géneros, cuando las especies entran en floración, aparecen en el ápice de las ramas o lateralmente. Tienen formaciones pilosas más o menos largas, lanosas y espinosas, estructuralmente han sido llamadas pseudocefalios y cefalios. Estas formaciones se deben a la actividad de la parte vegetativa de las areolas floríferas y a las de la región caulinar de la flor según las observaciones de Buxbau (Pach., Bot. Stud. 12:51. 1961).

Algunos autores llaman pseudocefalios a las regiones floríferas cuyas areolas, después de la floración, pierden los órganos pilosos aludidos persistiendo sus funciones vegetativas. Los cefalios son aquellas regiones floríferas pilosas cuyas areolas se modifican de tal manera que no continúan sus funciones vegetativas, pueden ser apicales o laterales.

2.2.10 Flor

La estructura de la flor presenta caracteres típicos anatómicos determinados, posiblemente por adaptación al medio seco y por las diversas modalidades de la polinización zoófila. En la flor se pueden apreciar dos tipos de órganos: los de origen axial, como la zona pedicelar, el hipanto o pericarpelo y el tubo receptácular, y los verticilos florales, que constituyen el androceo y gineceo.

El desarrollo de la flor se inicia por una yemita axial que está protegida por escamas dispuestas en espiral y que se produce en el ápice de los tallos o lateralmente. En esta yema, pronto se diferencian tres zonas meristematicas: 1) la externa, que producirá órganos foliares; 2) hacia el centro y rodeando a la primera, la que producirá los estambres, y 3) la central que origina los primordios de los carpelos y que se hunden formando el hipanto (Buxbaum, 2000).

2.2.11 Fruto

El fruto es muy complejo, pues en su estructura tienen el ovario y los órganos en que está incluido; el tejido medular del eje y el cortical o pericarpelo. Son muy variados en cuanto a forma y color, y su anatomía depende del grado de desarrollo o reducción de los órganos del pericarpelo, como son: los podadios, las escamas y las areolas con su producción o no de lana, cerda o espinas, en ciertos géneros hojas más o menos desarrolladas.

Buxbaum (2000), hace notar que en los frutos de algunos géneros primitivos, las areolas del pericarpelo se activan después de la fecundación, produciendo abundante cantidad de lana y espinas.

2.2.12 Semillas

Las semillas presentan variaciones en la forma, tamaño, estructura, color de la testa, en las características del embrión y de los tejidos almacenadores de sustancias nutritivas.

En una semilla madura hay que considerar varias partes: el embrión, el perisperma, la testa, el micrópilo, el hilo, la carúncula, el estróbilo y la cobertura funicular que existe en las semillas de algunos géneros.

El endosperma es un tejido de almacenamiento que se forma en el saco embrionario el efectuarse la fecundación y que es dirigido por el embrión durante su desarrollo. El perisperma es también un tejido de almacenamiento formado a expensas de la nucela y que igualmente es dirigido durante el desarrollo del embrión (Engleman, 1960).

2.3 Descripción de *Coryphanthas*

2.3.1 Clasificación Taxonómica *Coryphantha poselgeriana* var. *Saltillensis* Lem.

REINO Plantae

DIVISION Magnoliophyta Cronquist Takht & w. Zimm. ex Reveal.

CLASE Magnoliopsida Brongn.

SUBCLASE Caryophyllidae Takht.

ORDEN Caryophyllales Benth. & Hook.

FAMILIA Cactaceae Juss.

GENERO *Coryphantha* (Engelm.) Lem.

ESPECIE *poselgeriana* var. *Saltillensis* (A. Diertr.) Britton & Rose.

Características morfológicas

Plantas simples. **Tallo** globoso, ovoide o hasta cortamente cilindroide, de 10 a 20 cm de altura y de 10 a 13 cm de diámetro; ápice redondeado, lanoso y cubierto por las espinas.

Tubérculos ligeramente pequeños, con tendencia a aplanarse contra el tallo dispuestos en 5 y 8 series espiralados, duros, gruesos, romboideos o pentagonales, obtusos, de cerca de 2 cm de altura y 3.5 a 4.5 cm de ancho en la base, más o menos aplanados, provistos de un surco profundo que llega hasta la axila, lanoso, llevando 1 a 5 glándulas de color rojo anaranjado o grisáceo, situadas desde cerca de la areola hasta la axila. **Axilas** provistas de lana corta más o menos persistente, al principio de color blanquecino, después castaña y finalmente



Figura 1. *Coryphantha poselgeriana* var. *Saltillensis* Engelm.

grisácea. **Espinas radiales** 9 a 11, de 2 a 4 cm de longitud, 4 o 6 de ellas aciculares, agrupándose en un fascículo en la parte superior de la areola, ascendentes, blanquecinas o amarillentas, con la punta negra, volviéndose grisácea con la edad; las 5 o 6 restantes subuladas, robustas, rectas o ligeramente recurvadas, uniformemente radiadas, un poco ascendentes, bulbosas en la base, lisas, cuando jóvenes de color blanquecino, rosado o castaño hacia la base y negruzco hacia el ápice, con el tiempo volviéndose de color castaño rojizo o gris rasado y finalmente gris. **Espinas centrales** 1, de 3 a 4 cm de longitud, más o menos fuertemente subulada, regida, lisa, recta o ligeramente encorvada, con la base bulbosa, recta o ligeramente ascendente, muy semejante a las espinas radiales inferiores, cuando jóvenes con la base de color blanquecino y la punta negruzca, a veces con tintes rosados, rojizos o castaños, después más o menos grisáceo o castaño rojizo y finalmente grisáceo. **Flores** infundibuliformes, grandes, de 4 a 6 cm de longitud y diámetro; segmentos exteriores del perianto o linear – lanceolados, con el margen entero o encarnado, oscureciéndose en el segundo día, y cambiando a color rosa o rojo carmín, con la franja dorsal más oscura, a veces verdosa; segmentos interiores del perianto desde espatulados hasta linear – lanceolados, con el margen entero hasta ciliado, y el ápice desde agudo hasta apiculado, amarillo pálido rosado hasta de color rosa o encarnado, con la garganta rojiza hasta rojo carmín; filamentos rojos. **Anteras** desde amarillo hasta amarillo anaranjado; estilo de color rosa a castaño rojizo; lóbulos del estigma 8 a 10, de 3 a 5 mm de longitud, de color crema. **Fruto** una baya jugosa, oblonga hasta largamente ovoide, de 2.5 a 5 cm de longitud y 7 a 18 mm de diámetro, de color verdoso, conservando adheridos los restos secos del perianto. **Semillas** reniformes, de 2 a 2.5 mm de longitud y 1.5 mm de espesor; hilo cerca de la extremidad más delgada; testa lisa, brillante, de color castaño rojizo (Bravo y Sánchez, 1991).

2.3.2 Clasificación Taxonómica *Coryphantha speciosa* Lem.

REINO Plantae

DIVISIÓN Magnoliophyta Cronquist, Takht. & W. Zimm. ex Reveal

CLASE Magnoliopsida Brongn.

SUBCLASE Caryophyllidae Takht.

ORDEN Caryophyllales Benth. & Hook.

FAMILIA Cactaceae Juss.

GÉNERO *Coryphantha* (Engelm.)
Lem.

ESPECIE *speciosa* (A. Dietr.)
Britton & Rose

Características morfológicas

Tallo Simple, globoso hasta ovoide, con el ápice lanoso y cubierto por las espinas, de 9 cm de longitud y 8 cm de diámetro, de color verde oscuro hasta verde azulado (Bravo, 1991). **Tubérculos** En 8 y 13 series, cónicos hasta cilíndricos, de 2.5 cm de longitud, ligeramente arqueados hacia adentro. **Axilas** Al principio lanosas. **Areolas** Circulares lanosas cuando

jóvenes (Bravo, 1991). Las areolas forman también hojas reducidas, flores, nuevos tallos y además espinas, gloquideos, cerdas, pelos y a veces raíces adventicias (Paredes *et al.*, 2000). **Espinas radiales** 7 a 9, extendidas horizontalmente, de 1.5 cm de longitud, grises con la punta oscura. **Espinas centrales** 4, la superior erecta y dirigida hacia arriba, las otras como las radiales. **Flores** De 6 cm de diámetro, pericarpelo de 8 mm de longitud y 6.3 mm de diámetro, de color verde oscuro; segmentos exteriores del perianto



Figura 2. *Coryphantha speciosa*
Engelm.

de 30 mm de longitud y 8 mm de ancho de color verde olivo amarillento; segmentos interiores del perianto de 35 mm de longitud y 8 mm de ancho, de color amarillo oro; estambres numerosos; filamentos abajo amarillos arriba anaranjados; anteras amarillo claro; estilo y lóbulos del estigma amarillo verdosos. **Fruto** Ovoide, verde claro. **Semillas** De 2 mm de longitud (Bravo y Sánchez, 1991).

2.4 Descripción de *Epithelantha*

2.4.1 Clasificación Taxonómica *Epithelantha micromeris* Engelm.

REINO Plantae

DIVISIÓN Magnoliophyta Cronquist, Takht. & W. Zimm. ex Reveal

CLASE Magnoliopsida Brongn.

SUBCLASE Caryophyllidae Takht.

ORDEN Caryophyllales Benth. & Hook.

FAMILIA Cactaceae Juss.

GÉNERO *Epithelantha* F.A.C. Weber
ex Britt. & Rose

ESPECIE *micromeris*
(Engelm.) F.A.C. Weber ex Britton & Rose

Características morfológicas

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. **Aréolas**



Figura 3. *Epithelantha micromeris* Engelm.

pequeñas, alargadas, dimorfas; La florífera adyacente a la espinífera, situada en el ápice de los tubérculos, cuando jóvenes con lana blanquecina. **Espinas** 13 a 28 y hasta 40 dispuestas en 1, 2 o 3 series, según la edad de la planta, generalmente todas son radiales, de 5 a 8 mm de longitud, en ciertas variedades hay algunas interiores que han sido consideradas como centrales; todas son

aciculares, barbeladas, glandulosas, blancas, o con tintes amarillentos, de color rosa castaño rojizo, pectinadas o algo así, horizontalmente radiadas, ascendentes; en las aréolas apicales las externas son las más largas y erectas, y se agrupan formando un pincel; es frecuente que con el tiempo las espinas se rompan más o menos a la mitad. **Flores** brotando de la areola floríferas de los tubérculos jóvenes cercanos al ápice del tallo, muy pequeñas, infundibuliformes, abriéndose poco, de 3 a 5 mm de longitud y 3 a 6 mm de diámetro emergiendo muy poco entre la lana y las espinas del ápice del tallo; pericarpelo algo claviforme, desprovisto de escamas; segmentos exteriores de 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 más oscura; segmentos interiores del perianto cerca de 5, casi obdeltoides, de 1 a 2.5 mm de longitud, de color rosa pálido: estambres 10 a 15, de color amarillo claro; estilo amarillento; lóbulos del estigma 3 a 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 y Sánchez, 1991).

2.5 Descripción de *Turbinicarpus*

2.5.1 Clasificación Taxonómica *Turbinicarpus knuthianus* Boed.

REINO Plantae

DIVISIÓN Magnoliophyta Cronquist, Takht. & W. Zimm. ex Reveal

CLASE Magnoliopsida Brongn.

SUBCLASE Caryophyllidae Takht.

ORDEN Caryophyllales Benth. & Hook.

FAMILIA Cactaceae Juss.

GÉNERO *Turbinicarpus* Back.

ESPECIE *knuthianus* (Boed.)
John & Riha

Características morfológicas

Plantas pequeñas de 6 cm de diámetro, solitarias o en grupo.

Tallos de forma esféricos, color verde oscuro. Areolas en las plantas jóvenes desnudos, en mayores sobre todo en el ápice con lana blanca, que sigue todo el paquete de la columna vertebral con cortos, de lana, pero robusto. **Ápice** hundido, más o



Figura 4. *Turbinicarpus knuthianus* Boed.

menos cubierto por la lana y las espigas de las areolas más jóvenes. Sin embargo

casi no completamente cerrado. **Costillas** completamente divididas en tubérculos, cónicos, alrededor de 9 mm de largo y en la base de la misma anchura, de pie recto. **Espinas radiales** cerca de 18-20, de color blanco plateado, 8 mm de largo, muy delgado como agujas, suave y firme,

horizontal difusión, algo curvada para el cuerpo y en las areolas a menudo ligeramente amarillento, pero sin engrosamiento nodular. **Espinas centrales** sólo una, desde la parte superior de la areola, y curvas más arriba, 10 mm de largo, un poco más áspero que las espinas radiales, pero de un mismo color. **Espinas** agrupadas en aréolas. Costillas divididas completamente en tubérculos de forma cónica con 9 mm de largo; presenta pubescencia blanca en la parte apical; de 18 a 20 espinas radiales blancas con 8 mm de longitud, lisas, rígidas, puntiagudas, extendidas horizontalmente; una sola espina central de 10 mm de largo. **Flores** muy numerosas de 25 mm de longitud y de ancho; pétalos oblongos, escasamente puntiagudos, de color carmín rosado brillante a carmín rojo. **Fruto** ovalado, de color verde brillante a café. **Semillas** desconocido. (Bravo y Sánchez, 1991).

2.5.2 Clasificación Taxonómica *Turbinicarpus valdezianus* Moell.

REINO Plantae

DIVISIÓN Magnoliophyta Cronquist, Takht. & W. Zimm. ex Reveal

CLASE Magnoliopsida Brongn.

SUBCLASE Caryophyllidae Takht.

ORDEN Caryophyllales Benth. & Hook.

FAMILIA Cactaceae Juss.

GÉNERO *Turbinicarpus* Back.

ESPECIE *valdezianus* Moell.

Características morfológicas

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, cónico, de 2 a 3 mm de longitud, de sección rómbica en la base, aplanados lateralmente, con la punta roma.

Aréolas pequeñas, desde circulares hasta elípticas, algo lanosas. **Espinas** unas 20 o 30, de 1.5 a 2 mm



Figura 5. *Turbinicarpus valdezianus* Moell.

de longitud, muy delgadas, setosas, blancas, horizontales y más o menos pectinadas. **Flores** brotando de las aréolas 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 línea media más oscura y el margen más 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 subacuminado. **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** periformes, de 1 mm de longitud; hilo basal; testa tuberculada, negra (Bravo y Sánchez, 1991).

2.6 Propagación de cactáceas

La propagación de cactáceas se puede llevar a cabo por la división de matas, estacas, injertos, cultivo de tejidos y por semilla, todas en particular tienen ventajas y desventajas para su propagación. Las ventajas que puede tener la propagación de semillas es que se considera una de las más baratas, las plantas son más sanas, sin marcas y mejor adaptadas a las condiciones ambientales en el lugar donde se establece el cultivo y además con esta forma de propagación se puede permitir el flujo o la reaparición de caracteres no expresados en generaciones pasadas. (Olvera, 2005).

2.7 Semilla

La semilla es el medio de reproducción sexual de las espermatofitas, gimnospermas y angiospermas; y es definida como ovulo fecundado, independientemente de la planta madre, que ha madurado hasta adquirir la diferenciación y capacidad fisiológica para originar un nuevo vegetal. (Camacho-Morfin, 1994). En el interior de las semillas se encuentran algunos elementos que posibilitan su germinación, como también reservas nutritivas para los primeros días de la planta nueva (Rodríguez y Apezteguia, 1985).

El cultivo a través de la semilla es más lento y difícil en su forma convencional, pero proporciona la oportunidad de obtener variantes seleccionadas de las especies y cultivar híbridos nuevos por polinización manual (León, 2006).

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 esporofito parcialmente desarrollado. (Fahn, 1978).

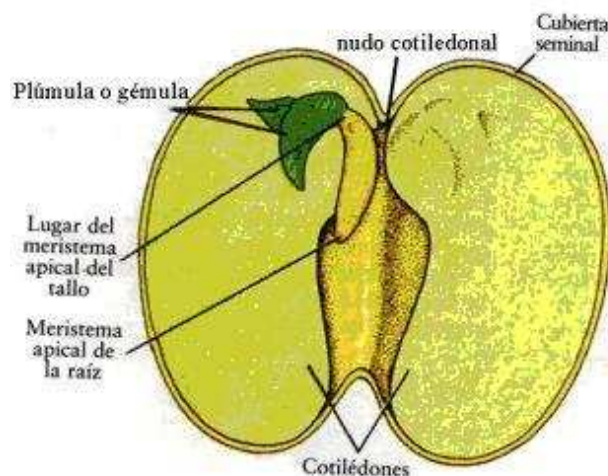


Figura 6. Partes que conforman la semilla.

2.8 Germinación

La germinación es el comienzo del crecimiento activo del embrión, o sea su paso de vida latente a la vida activa (Medina, 1977).

Se define como la emergencia y desarrollo de las estructuras esenciales que provienen del embrión, manifestando la habilidad que tiene la semilla para producir una planta normal bajo condiciones favorables (Moreno *et al.*, 1992). Reyes, (1993) agrega que 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 son utilizados por el embrión para su crecimiento y desarrollo.

Para que la germinación ocurra, se deben de satisfacer determinadas condiciones; que la semilla sea viable, que existan condiciones ambientales favorables (agua, temperatura, oxígeno y luz) para la semilla germine y que la semilla este libre de patógenos (Hartmann y Kester, 1995).

El proceso de germinación requiere de la absorción de agua, que suele efectuarse en tres fases; la 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 está relacionada con el alargamiento de las células y aparición de la radícula (Besnier, 1989).

En las células en donde se efectúa la hidrólisis, 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 proteínicos también ocurre durante la germinación (Salisbury y Ross, 1994).

2.8.1 Factores que interfieren en la germinación

Para que una semilla germine, es necesario que haya una serie de condiciones externas favorables que son: humedad, temperatura y aireación.

2.8.1.1 Humedad: Para que la semilla tenga un metabolismo activo es necesario que sus tejidos se rehidraten de nuevo. Para ello la semilla debe de estar en contacto físico con el agua. Se debe de evitar un exceso de agua porque es desfavorable para la llegada del oxígeno a la semilla (al embrión). Cuando la radícula sale al exterior, el agua llega hasta el embrión a través de las paredes celulares de la cubierta seminal.

2.8.1.2 Temperatura: Es un proceso decisivo para el proceso de germinación. Influye en las enzimas que regulan la velocidad de las reacciones bioquímicas que ocurren en la semilla tras la hidratación.

En la actualidad no existen recomendaciones en los rangos de temperatura requeridas para el 85 % de las especies de las cactáceas (Mrinskii, 1985). Por otra parte, Pilbean (1980) menciona que han hecho pruebas de germinación en cactáceas y se ha visto que 20 °C es la temperatura óptima para germinar.

2.8.1.3 Oxígeno: La aireación es necesaria para que la semilla germine, pues el embrión necesita disponer del oxígeno suficiente para la obtención de energía imprescindible para realizar sus actividades metabólicas (Pérez y Martínez, 1994).

La mayoría de las cactáceas germinan en un lapso de una semana, aunque hay algunas excepciones. Por lo general las semillas viejas tomarán más tiempo en germinar, de tres semanas o más (Álvarez, 1986).

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

Según Loza-Cornejo *et al.*, 2001, la germinación de semillas de *Stenocereus queretaroensis*, *Neobuxbaumia mezcalaensis* y *Myrtillocactus geometrizans*, es un proceso rápido que se inicia por lo general entre los tres y seis días, alcanzando porcentajes de germinación superiores al 80 % en un lapso de tiempo relativamente corto.

Morales-Rubio *et al.*, (2000) sembraron semillas de Pitaya de mayo en Agar y en medio Murashige y Skoog (1962) adicionado con promotores de brotación. En ambos sustratos lograron una germinación del 90 %.

2.9 Micropropagación

La palabra micropropagación fue empleada por primera vez en 1968 por Hertmann y Kester para designar varias de las técnicas utilizadas en la multiplicación *in vitro* (Hertman y Kester, 1995).

La micropropagación es todo medio aséptico que comprenda la manipulación en plantas, como órganos, tejidos o células que produzcan poblaciones de plántulas y que permitan la desviación del proceso sexual normal, como de la propagación vegetativa no aséptica que se practica convencionalmente. Este procedimiento implica que cada plántula nueva que se produzca puede crecer y ser fenotípica y genotípicamente idéntica a la planta original de que se deriva.

Con la micropropagación se obtiene un gran número de plántulas a partir de una planta, se cultiva primero en tubos de ensayos y luego en frascos o cajas de polipropileno, los explantes pueden ser fragmentos de capítulos muy jóvenes o meristemas. Se obtienen nuevas plantas a los tres o cuatro meses y su estado sanitario es excelente, ya que están exentas de microorganismos patógenos (Vidalic, 1992).

Es una técnica que debe realizarse en instalaciones específicas, donde se mantienen condiciones asépticas en todas las manipulaciones para evitar las contaminaciones por hongos y bacterias. Se desarrolla fuera del ambiente natural, en cámaras de ambiente controlado en las que se mantienen a niveles óptimos para el crecimiento, en la que no participan los órganos reproductores de la planta, sino que se realiza por medio de una estimulación de la inducción de yemas, que dan lugar a nuevos brotes, una vez enraizados, forman las nuevas plantas (Otero y Dolama, 1998). Dentro de esta metodología, la micropropagación ha sido la más difundida y con aplicaciones prácticas comprobadas, se ha insertado en los programas de mejoramiento para la propagación de clones de alto valor genético (Daquinta, 2000).

Actualmente existen muchas técnicas para la modificación genética de plantas *in vitro*. Estas técnicas también dependen de la micropropagación tanto para la regeneración como para la manipulación de nuevas características (George, 1996).

Torres (1996), menciona que el proceso de micropropagación está constituido por cinco etapas:

FASE 0: Preparación de la planta madre: en esta etapa se seleccionan las plantas donadoras y una serie de pre-tratamiento en condiciones higiénicas controladas, cuyo objetivo es mejorar la eficiencia en la implantación y el desarrollo posterior de los cultivos *in vitro*.

FASE I: Establecimiento del cultivo en condiciones de asepsia: el objetivo de esta etapa es establecer cultivos asépticos y viables con los cuales se da inicio al proceso de propagación.

FASE II: Multiplicación de brotes: es considerada la etapa más importante del proceso de micropropagación, pues es ahí donde se realiza la propagación de los brotes y la estabilidad genética de las vitroplantas producidas.

FASE III: Enraizamiento: su objetivo es preparar las plántulas para su restablecimiento en condiciones de suelo.

FASE IV: Aclimatación: es la fase final del proceso y por lo tanto su meta es lograr plantas listas para su trasplante definitivo a campos de producción o invernaderos. Las plantas obtenidas *in vitro* son llevadas a condiciones ambientales *ex situ* (suelo o algún sustrato inerte) (Muñoz, 2006).

2.9.1 FASE 0: Preparación de la planta madre

Esta etapa fue inicialmente propuesta para tratar de reducir los problemas de contaminación que se presentaba comúnmente en la etapa I, sin embargo, en la actualidad existe un consenso de que esta etapa es importante e indispensable para el desarrollo de un esquema de micropropagación eficiente y repetible, por lo que cada vez se la va prestando mayor importancia. Tiene una marcada influencia sobre la calidad posterior de las plantas resultantes del proceso tanto desde el punto de vista sanitario, fisiológico y genético (Guiñazu *et al.*, 2005).

2.9.2 FASE I: Establecimiento del cultivo en condiciones de asepsia:

El objetivo de esta etapa es lograr el establecimiento de cultivos asépticos y fisiológicamente vigorosos con los cuales se inicia el proceso de multiplicación.

Una vez escogida la planta madre, se extraerán los fragmentos a partir de los cuales se obtendrán los explantes. Antes de extraer los explantos se hará una desinfección de los fragmentos de la planta para eliminar los contaminantes externos. Una vez desinfectado el material vegetal, se debe mantener en condiciones de asepsia.

Ya en condiciones de asepsia (se trabajará en campanas de flujo laminar) se extraerán los explantos del material vegetal y se pondrán en un medio de cultivo para poder controlar la sanidad y la viabilidad de los explantos (Hernandez, 2005).

El tamaño de desarrollo de la planta madre, la edad fisiológica del explante, así como su tamaño son de gran influencia en el cultivo *in vitro* (Hernández, 1997).

2.9.3 FASE II: Multiplicación de brotes:

Esta es la etapa más importante de la micropropagación ya que en ella se realiza la verdadera multiplicación o micropropagación de una especie o variedad, definiéndose tanto el número de plantas o propágulos para obtener por su calidad genética (Orellana, 1998).

Para llevar a cabo la multiplicación se induce la proliferación de brotes, los cuales se separan en condiciones estériles y son subcultivados nuevamente en medio fresco para inducir nuevos brotes, esta operación se repite hasta lograr la cantidad de plantas deseadas.

Rodríguez *et al.*, (2006), realizaron un trabajo de establecimiento y multiplicación de *Escorbaria cubensis* (Britton) a partir de las areolas de la mamila, logrando establecer un protocolo que permite obtener de 3 a 5 hijos por planta y su posterior enraizamiento y aclimatación, además de introducir en el área natural las vitroplantas obtenidas por esta metodología, lo que demuestra que es eficiente en el cultivo *in vitro* de cactáceas.

Estrada-Luna *et al.*, (2008), realizaron un estudio desarrollado bajo condiciones de invernadero evaluando el efecto de la colonización de tres cepas seleccionadas de endomicorrizas en el crecimiento y absorción nutrimental de plantas micropropagadas de nopal (*Opuntia albicarpa* Scheinvar cv. "Reina"). Las cepas empleadas para la inducción de plantas fueron ZAC-19, "Desierto de Sonora", y una cepa de *G. intraradices*. Los resultados obtenidos en esta investigación evidencian que el nopal puede hospedar a diferentes especies de hongos micorríticos; sin embargo, el estudio de la eficiencia de la simbiosis permitió optimizar las respuestas de las plantas. Este conocimiento profundo en el manejo apropiado de la simbiosis ofrece la posibilidad de utilizarlos a nivel práctico y de reducir el uso de fertilizantes químicos y pesticidas en sistemas de agricultura sustentable.

García y Malda, (2008), llevaron a cabo la micropropagación de *Mammillaria mathildae*, con el propósito de introducirla de nuevo a su hábitat. Utilizando medio MS, sin hormonas, se obtuvieron en siete meses plántulas con el promedio de 1.78 ± 0.04 cm de altura y 1.36 ± 0.02 cm de diámetro. Estas fueron inoculadas con un consorcio nativo de micorrizas por medio de un cultivo aeróbico. En 64 días se alcanzó el 100 % de micorrización; en 74 días, las plantas inoculadas aumentaron su altura (32 %), diámetro (24 %), biomasa (20 %) y contenido de fósforo (60 %) respecto del control. En invernadero floreció el 64 % mientras que en campo lo hizo el 14 %. Seis meses después de la nueva introducción, murió el 54 % de plantas no micorrizadas; en contraste, sobrevivió un 89 % de las infestadas.

2.9.4 FASE III: Enraizamiento:

Este proceso se ve afectado por la especie, tipo y tamaño del explante, interviene el estado fisiológico del tejido, número de subcultivos, composición del medio de cultivo y condiciones de incubación (Starling, 1985; Roberts y Matthews, 1995).

El enraizamiento de los brotes propagados *in vitro* reviste gran importancia pues el objetivo es producir plantas con buenas características fisiológicas y morfológicas para que estas puedan sobrevivir las condiciones de trasplante a suelo. La formación del sistema radicular y su desarrollo son fundamentales para lograr la transferencia de las vitroplantas a condiciones de invernadero (Villavicencio *et al.*, 2006a).

El objetivo es que los brotes crezcan hasta formar plantas completas y desarrollen un sistema radical que les permite ser trasplantadas en un sustrato en condiciones de vivero o invernadero. Esta es la etapa más voluminosa del proceso, ya que en cada brote, esqueje o yema se cultiva y manipula *in vitro* para que además de crecer y desarrollar, forme y desarrolle varias raíces que le permitan comenzar la absorción de nutrientes, posteriormente se transporta a un sustrato y se convierte en una planta *in vitro* o vitroplanta aclimatizada, lista para llevarse a campo (Ramírez, 2008).

Arenas *et al.*, (2003), señalaron que el mejor enraizamiento durante la micropropagación de *Turbinicarpus pseudopectianus* se logró utilizando un medio de cultivo complementado con 0.01 mg L⁻¹ de ANA. Se ha encontrado que en este proceso existen diferencias entre especies como lo reportado por Gómez *et al.*, (2003), quienes realizaron la micropropagación *in vitro* de *Ariocarpus brevoanus* obteniendo un bajo porcentaje de enraizamiento de tubérculos (25 %); sin embargo, las raíces obtenidas fueron vigorosas y de 4 – 8 en cada tubérculo cuando utilizaron un medio de cultivo MS con IBA (0-2 mg L⁻¹) y ANA (0-1 mg L⁻¹), a diferencia de lo reportado por Montalvo *et al.*, (2004), quienes obtuvieron un 100 % de enraizamiento en plantas propagadas *in vitro* de *Pilosocerus* sp., cuando utilizo un medio de cultivo MS sin reguladores de crecimiento.

2.9.5 FASE IV: Aclimatación:

La aclimatación de las plantas se considera la etapa más importante de la micropropagación (Ortiz, 2000), dado el hecho que las plántulas pequeñas en su continuo crecimiento y desarrollo, requieren de un proceso de adaptación al nuevo medio al cual se enfrentan, donde resultan más susceptibles al estrés ambiental (Morales *et al.*, 2009).

Las técnicas más eficaces en la aclimatización son las que van más encaminadas a lograr gradualmente menos humedad relativa, más luz, crecimiento autotrófico y un medio aséptico (Pérez *et al.*, 1998).

Vilchez *et al.*, (2007), mencionan que la aclimatación de vitroplantas consiste en el paso a las condiciones *in vitro* donde se desarrollan para su cultivo con el objetivo de que superen las dificultades ocasionadas al ser removidas del ambiente *in vitro* y de esa manera prepararlas para su trasplante definitivo.

Este proceso es crítico, pues las vitroplantas pasan de un ambiente de baja transpiración a otro que exige mayor demanda hídrica que puede ocasionar estrés hídrico.

La supervivencia de las vitroplantas regeneradas durante el periodo de adaptación, depende de las peculiaridades fisiológicas, estructurales y anatómicas que las plantas presentan producto del desarrollo *in vitro* (Texeira, *et al.*, 1995).

Las plantas cultivadas *in vitro* pasan de un estado heterótrofo a un estado autótrofo con diferentes niveles de nutrientes y finalmente de un ambiente aséptico (Sotolongo, 2000).

Castañeda, (2004), reportó la aclimatización de *M. plumosa* subcultivando los brotes en medio MS al 50 % y permanecieron ahí hasta que el medio se agotó, luego fueron trasplantadas a macetas con sustratos diferentes, 1) peat-moss: perlita: arena de río (1:1:1); 2) Peat-moss: perlita: tierra de hoja (1:1:1). Las plántulas se cubrieron con bolsas de polietileno para conservar la humedad y se regaron con medio nutritivo MS al 50 %. El mejor sustrato fue el 1) Peat-moss: perlita: arena de río (1:1:1) con un 83 % de sobrevivencia de plántulas trasplantadas a los 90 días.

Acevedo, (2009), evaluaron la aclimatización de *Mammillaria haageana* subsp. *San-angelensis* y *Obregonia denegrii* utilizando cuatro tratamientos combinando dos sustratos y dos soluciones nutritivas: T1 = 6 % aserrín de coco + 94 perlita + Grofol[®] 0.66 %, T2 = 6 % aserrín de coco + 94 perlita + MS al 50 %, T3 = 51.11 % aserrín de coco + 28.97 % perlita + Grofol[®] 0.66 y T4 = 51.11 % aserrín de coco + 28.97 % perlita + MS al 50 %. Los parámetros evaluados fueron: la altura, el diámetro de las plantas, longitud de la raíz, el peso fresco, el peso seco y el porcentaje de sobrevivencia. El porcentaje de sobrevivencia para *M. haageana* subsp. *san-angelensis* fue de 100 % con los cuatro tratamientos evaluados logrando aclimatizar las plantas. El tratamiento 1 fue el mejor para la aclimatización de *Obregonia denegrii* permitiendo alcanzar el 100 % de sobrevivencia de las plántulas.

2.10 Cultivo *in vitro*

Cuando se habla del cultivo de plantas, generalmente se refiere a cultivares en macetas o cultivares en el campo. Hanning (1904) desarrolló, un nuevo método de cultivo de plantas al que llamo cultivo de embriones. Aisló *in vitro* embriones inmaduros de algunos miembros de la familia de las Crucíferas, obteniendo plantas viables. El nombre de cultivo *in vitro* lo recibe porque al menos inicialmente se usaron recipientes de vidrio para llevar a cabo este tipo de cultivo. Por lo tanto el cultivo *in vitro* puede definirse como un conjunto de técnicas que permiten el cultivo de órganos, tejidos y células empleando medios nutritivos artificiales ricos en sales minerales, vitaminas y hormonas. De forma general, el cultivo *in vitro* se realiza en frascos de cristal y las plantas que se obtienen se llaman vitroplantas, las cuales pueden multiplicarse de forma acelerada; proceso conocido como micropropagación (IMGEMA, 2008).

2.11 Manejo de las vitroplantas

Para el manejo de las nuevas vitroplantas se recomienda que las plantas se laven cuidadosamente para eliminar restos de agar de los brotes y raíces. Si es posible se clasifican las plantas por tamaño e individualizar los brotes múltiples. Se sumergen en una solución fungicida (Benomyl) con el fin de proveerlas de defensas contra los microorganismos patógenos comunes del suelo al que serán trasplantadas. Se recomienda mantener la humedad relativa alta (80 – 90 %) durante la primera o segunda semana, a partir de la segunda semana se recomienda progresivamente la luz y se espacian los riegos, reduciendo así la humedad relativa. Se inicia la fertilización tan pronto como se haya establecido el sistema radicular, esto normalmente ocurre a las dos o tres semanas (Jiménez, 1998).

2.12 Selección del medio de cultivo

El éxito que se tenga el cultivo de tejidos vegetales depende del medio nutritivo adecuado, como también de otros parámetros.

Para el desarrollo y crecimiento del material vegetal es necesario que contenga macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, carbohidratos y soluciones de fierro, dependiendo del objetivo se utilizan los reguladores de crecimiento (auxinas, citocininas y giberelinas).

2.12.1 Medio de cultivo

El medio de cultivo tiene dos funciones principales: la primera es proporcionar los nutrientes básicos para el crecimiento de los explantes y la segunda es dirigir el crecimiento y desarrollo mediante reguladores de crecimiento (auxinas, citocininas y giberelinas), este control se hace escogiendo la clase de regulador, la concentración y secuencia en que se proporciona (Hartmann, 1999).

El medio Murashige y Skoog (MS) es el más usado para diversas especies de plantas, es la combinación sólida o líquida de nutrientes y agua. Incluye sales inorgánicas, carbohidratos, vitaminas y aminoácidos. Se le denomina Medio Basal y puede ser suplementado con algún regulador de crecimiento y ocasionalmente con otras sustancias, para adecuarlas al cultivo de diferentes especies tal como han hecho muchos investigadores (Pelacho *et al.*, 2008).

2.12.2 Compuestos del medio nutritivo

Los compuestos son esenciales para el desarrollo y crecimiento de la planta: sin nutrientes una planta no puede vivir, las fuentes de carbono son indispensables ya que las plantas no son completamente autótrofas y los reguladores de crecimiento favorecen el desarrollo y crecimiento de los explantes (Pierik, 1990).

2.12.3 Sales inorgánicas

Las sales son el grupo más importante de sustancias nutritivas en el medio nutritivo para el cultivo *in Vitro*. Por lo general se utilizan soluciones madre concentradas, para facilitar la preparación del medio nutritivo. La fórmula de Murashige y Skoog (1962), se utiliza mucho, porque se ha demostrado que es un medio adecuado para la mayoría de las plantas, ya que estas reaccionan de forma positiva.

2.12.4 Compuestos orgánicos

Se clasifican en tres grupos: carbohidratos, reguladores de crecimiento (o fitohormonas) y vitaminas.

2.12.5 Vitaminas

Varias vitaminas se utilizan en el medio nutritivo para el cultivo de tejidos vegetales como son el Ac. Nicotínico, Piridoxina, Tiamina y Myoinositol. La mayoría de las cactáceas son capaces de sintetizarlas, ya que son compuestos necesarios para su metabolismo, en estas plantas están presentes la vitamina A y el complejo B (Pierik, 1990; Velazquez, 2004).

2.12.6 Fuentes de carbono

Son muy importantes en el medio nutritivo, por ser los portadores de azúcares; son esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas *in Vitro*. La sacarosa es la fuente de carbono más utilizada. También se utiliza la glucosa, la fructosa y el almidón (Pierik, 1990). Ocasionalmente se utiliza la glucosa en cultivos de monocotiledoneas, así como la fructosa y el almidón para otras especies (Hurtado, 2000).

2.12.7 Fitoreguladores

Los fitoreguladores son compuestos orgánicos sintetizados por las plantas superiores, que influyen sobre el crecimiento y desarrollo; actúan en lugares diferentes de donde son producidas, como en el crecimiento de los tallos, raíces y hojas y actúan en muy pequeñas cantidades (Rodríguez, 2006).

Hill, (1977), hace la siguiente definición: “Una hormona reguladora de crecimiento vegetal es una sustancia orgánica, que es sintetizada en el interior de una planta y que a bajas concentraciones puede activar, inhibir o modificar cualitativamente el crecimiento, ejerciendo normalmente esta acción en un lugar distinto al de origen. Su efecto no es debido a su valor calórico ni a su contenido de elementos esenciales”. Mientras que Kefeli (1978), establece tres características comunes para estos compuestos: la primera es que son sintetizados en uno de los órganos de la planta (hojas jóvenes, yemas, brotes y puntas de raíces) y transportados a otros sitios donde estimulan los procesos de organogénesis y crecimiento, en segundo lugar son sintetizadas en las plantas y funcionan en cantidades pequeñísimas y tercero pueden tener un efecto formativo en la planta. Por ejemplo, las auxinas inducen el crecimiento de la raíz, las citoquinina el proceso de división celular y las giberelinas inducen al crecimiento del tallo.

El crecimiento de las plantas es un proceso dinámico complejo y que está rigurosamente controlado, en el que los reguladores de crecimiento vegetal (RCV) que actúan en el control del crecimiento dentro de las plantas a nivel de órgano, tejido y célula (Wareing y Phillips, 1973). Actualmente se reconoce que la mayor parte de la actividad fisiológica de las plantas esta medida por los reguladores de crecimiento (Devlin, 1980).

Actualmente se reconocen cinco tipos básicos de sistemas químicos de reguladores de crecimiento vegetal (Leopold y Kriedemann, 1975) dividido en tres grupos principales:

- Promotores del crecimiento: auxinas, citocininas y giberelinas.
- Inhibidores del crecimiento: ácido abscísico.
- Etileno.

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 ácido abscísico el bloqueo de la germinación y el etileno la maduración de los frutos (UPV, 2003).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 Localización del experimento

El presente trabajo se realizó en dos lugares diferentes:

FASE I: Establecimiento del cultivo en condiciones de asepsia (siembra y germinación) se llevó a cabo en el Laboratorio de Biología del Departamento de Botánica de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”.

FASE II: Multiplicación de brotes se llevó a cabo en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Campo Experimental Saltillo CIRNE-INIFAP ubicado en la carretera 57 Saltillo-México en la Ciudad de Saltillo, Coahuila.

3.2 Material biológico

Semillas de *Coryphantha poselgeriana* y *Coryphantha speciosa*

Plantas *in vitro* de *Epithelantha micromeris*, *Turbinicarpus knutianus* y *Turbinicarpus valdezianus*.

3.3 Características del Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales

El Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales consta de 4 áreas de trabajo:

3.3.1 Sala de lavado

En esta sala se lleva a cabo el lavado de la cristalería en general. Aquí se puede instalar la autoclave para esterilizar tanto el medio de cultivo como el material y tubos o recipientes contaminados.

3.3.2 Sala de preparación de medio y material vegetativo

En esta sala se preparan los medios de cultivo que serán utilizados en las diferentes fases de desarrollo de los inóculos, al igual que el material vegetativo del cual se tomara el inóculo seleccionado.

3.3.3 Sala de siembra y disección

En esta sala se deben tener los máximos cuidados de asepsia, para lo cual se emplean cámaras de flujo laminar de aire, utensilios estériles, cubre bocas, cubrecabezas y aire filtrado en la sala.

3.3.4 Sala de incubación

En esta sala se mantienen el material vegetativo en sus diferentes fases del crecimiento considerando diferentes fotoperiodos, temperatura, intensidad lumínica, etc.

3.4 Almacén

Debe guardar los reactivos y cristalería en existencia. El material debe de mantenerse en condiciones de baja humedad relativa y en un lugar no caliente y de preferencia oscuro.

3.5 Preparación del medio MS (Murashige y Skoog, 1962)

Se prepararon soluciones madre para la elaboración del medio. Se utilizó una balanza analítica, en donde se pesaron los reactivos para preparar las soluciones de macro nutrientes, micronutrientes, soluciones de hierro y vitaminas.

Las soluciones madre se guardaron en el refrigerador en envases de vidrio, para tomarlas cada que se requirió preparar medio nutritivo.

Los compuestos utilizados en la preparación de las soluciones madre se presentan en la siguiente tabla.

Cuadro 1. Compuestos del medio MS (Murashige y Skoog, 1962)

MACROELEMENTOS		PESO MOLECULAR
NH ₄ NO ₃	Nitrato de Amonio	80.4
KNO ₃	Nitrato de Potasio	101.11
MgSO ₄ .7H ₂ O	Sulfato de Magnesio	246.48
KH ₂ PO ₄	Fosfato de Potasio	136.09
Ca(NO ₃) ₂	Nitrato de Calcio	236.15
MICROELEMENTOS		
IK	Ioduro de Potasio	166.01
H ₃ BO ₃	Acido Bórico	61.83
MnSO ₄ .4H ₂ O	Sulfato de Manganeso	228.0
ZnSO ₂ .7H ₂ O	Sulfato de Zinc	287.54
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	241.95
CuSO ₄ .5H ₂ O	Sulfato Cúprico	249.68
CoCl.6H ₂ O	Cloruro de Cobalto	239.93
QUELATOS		
Na ₂ EDTA		372.24
FeSO ₄ .7H ₂ O		278.28
VITAMINAS		
Acido Nicotínico		0.50
Piridoxina		0.50
Tiamina		0.1
Myoinositol		100.0
AMINOACIDOS		
Glicina		2.0
Sacarosa		30.0 g/L
Agar		6.0 g/L
Ph		5.7

3.6 Procedimiento experimental

3.6.1 Germinación

Se utilizaron semillas de *C. poselgeriana* y *C. speciosa* cosechadas en el ciclo Primavera-Verano Junio de 2009, en los Municipios de Arteaga y General Cepeda, Coahuila. Estas se extrajeron del fruto y se lavaron con agua corriente varias veces. Una vez limpias, se guardaron en un sobre de papel, se colocaron en un lugar seco y fresco hasta el momento de la siembra.

3.6.1.1 Desinfección de la semilla

La desinfección se llevo a cabo haciendo grupos y colocándolas en sacos pequeños de tela magitel estéril, para tener un control del número y tamaño de la semilla.

El proceso de desinfección consistió en hacer lavados con diferentes productos:

1. Lavado con agua destilada y detergente (Tween) al 20 % por 5 min.
2. Lavar con una solución de etanol al 70 % por 1 min.
3. Lavar con hipoclorito de sodio al 20 % por 10 min.
4. Finalmente se enjuagaron en agua desionizada estéril.



Figura 7.- Desinfección semillas de *Coryphantha* spp. a) Semillas preparadas para la desinfección, envueltas en sacos de tela magitel. b) Lavado con agua destilada y detergente (Tween) al 20 % por 5 min. c) Lavado con hipoclorito de sodio al 20 % por 10 min. d) Lavado con solución de etanol al 70 % por 1 min e) enjuagado en agua desionizada estéril. f) Eliminación del saco de tela magitel. g) Colocación en caja petri para su secado en la Campana de Flujo Laminar.

Todo el procedimiento se realizó con la mayor asepsia posible como lo requieren todos los procesos de las técnicas de cultivo *in vitro*.

Diseño experimental germinación *in vitro*

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar para evaluar la germinación considerando dos especies *C. poselgeriana* y *C. speciosa* tres medios base para la germinación (MBG) como tratamientos: T1 = MS (Murashige and Skoog) al 100 % (testigo), T2 = MS al 50 % y T3 = MS al 25 %. Como unidad experimental se consideraron 10 semillas por caja petri con cinco repeticiones por tratamiento para *C. poselgeriana* y diez repeticiones por tratamiento para *C. speciosa*.

3.7 Parámetros evaluados

3.7.1 Germinación

Los parámetros evaluados para la germinación fueron: porcentaje y velocidad de germinación cada 15 días.

3.7.1.1 Evaluación del porcentaje de germinación

Para evaluar el porcentaje de germinación, el primer conteo de las semillas germinadas se realizó a los 15 días de establecido el experimento, posteriormente la siguiente evaluación se hizo con el mismo intervalo de tiempo.

3.7.1.2 Evaluación de velocidad de germinación

La velocidad de germinación se obtuvo mediante la evaluación del número de semillas germinadas en función del tiempo.

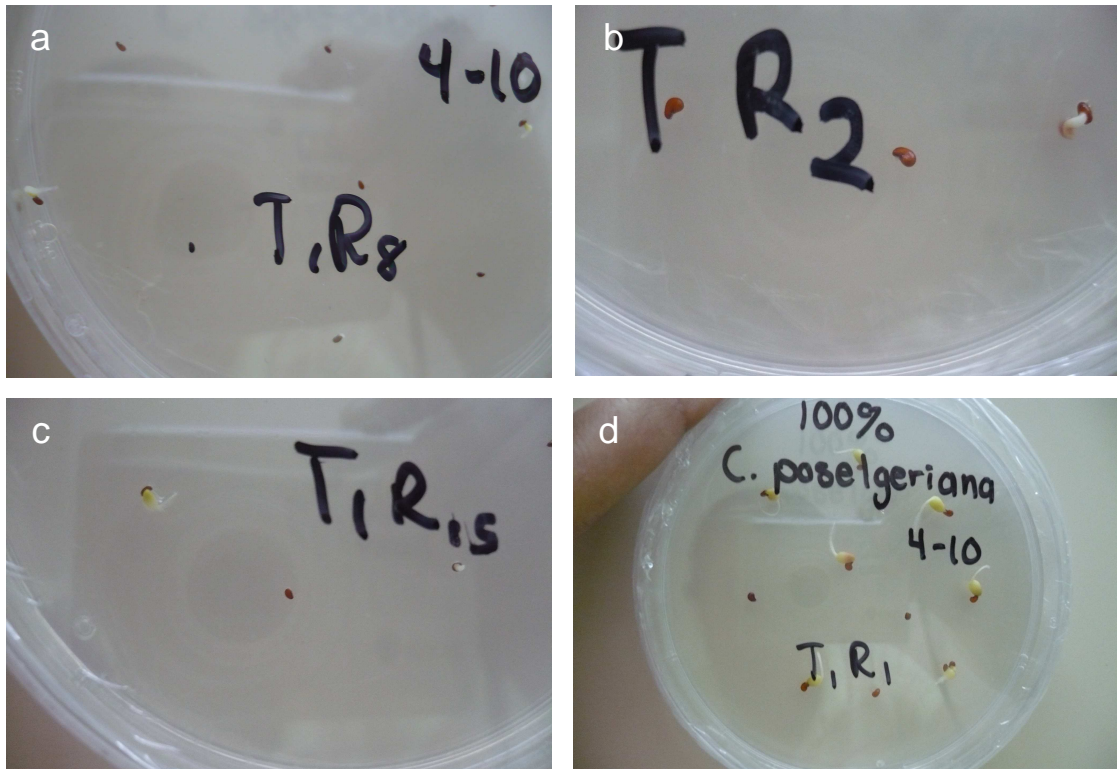


Figura 8. Evaluación de Germinación. a)- Semillas de *C. speciosa* en su primer evaluación b)- Semillas de *C. posegeriana* en su primer evaluación. c)- Segunda evaluación de *C. speciosa*. d)- Segunda evaluación de *C. posegeriana*.

3.7.2 INDUCCION DE BROTES

Se utilizaron plantas germinadas *in vitro*, de *E. micromeris*, *T. knutianus* y *T. valdezianus* las cuales fueron subcultivadas en un medio base hasta que alcanzaron una altura deseable. A dichas plántulas se les elimino el segmento apical, estableciendo 5 explantes por frasco⁽⁹⁾ con 25 mL de medio MIB, los cuales fueron llevados al cuarto de incubación considerando un fotoperiodo de 16/8 h. y temperatura de 25 ° C.

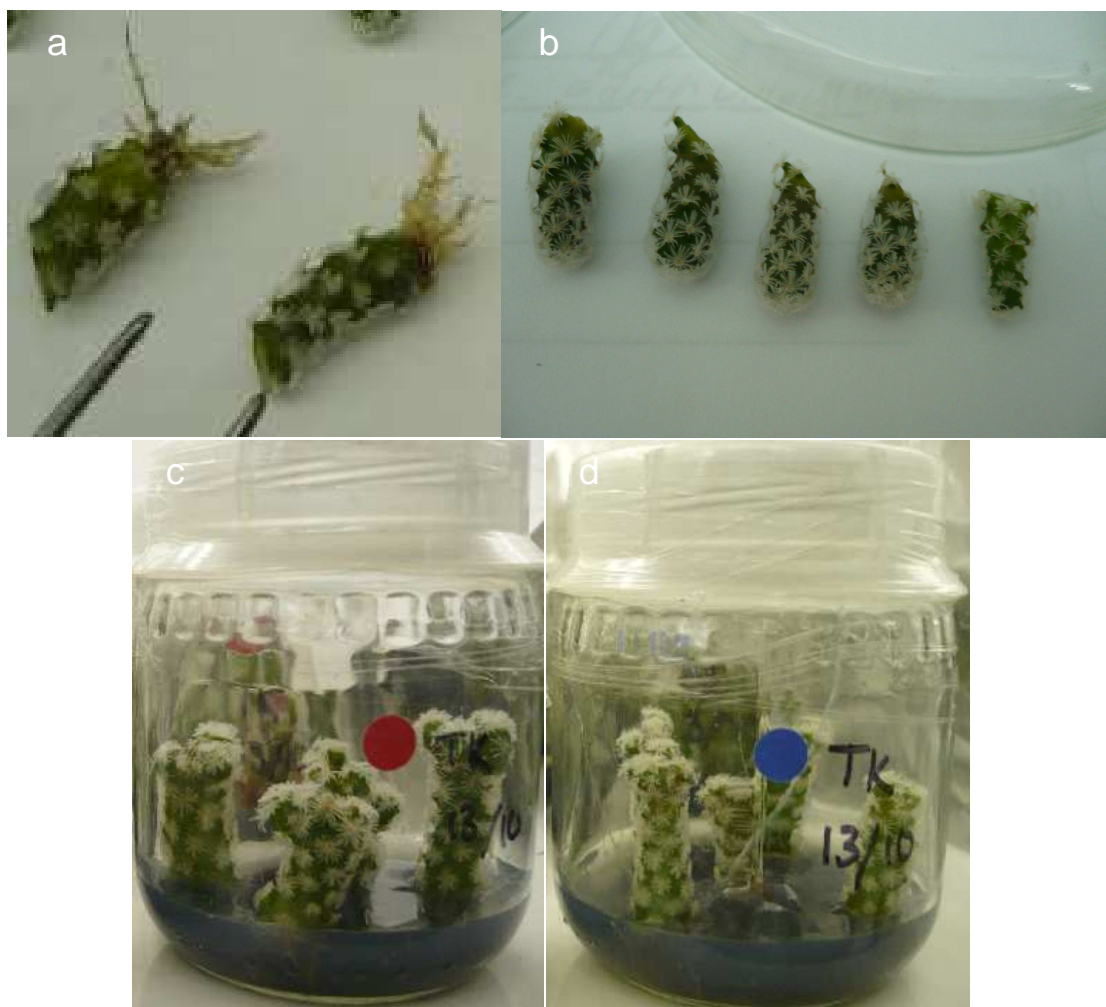


Figura 9. Inducción de Brotes. a) y b)- Corte transversal de *T. knutianus*. c) y d)- Tratamientos de la especie.

Se evaluarón en un MIB base con diferentes tratamientos:

3.7.2.1 *Epithelantha micromeris* Engelm.

Mediante el diseño completamente al azar con arreglo factorial, se evaluó el efecto en dos citocininas con cinco concentraciones de Kin (0.46, 1.16, 2.32, 3.48 y 4.64 μM) y cinco de BA (0.66, 1.1, 2.21, 3.3 y 4.4 μM) combinadas en relación 10:1; con cinco concentraciones de AIB (0.41, 1.03, 2.07, 3.1 y 4.13 μM). Se tuvieron un total de 10 tratamientos con 12 repeticiones, considerando un frasco con 20 mL de medio de cultivo con cinco explantes cada repetición.

3.7.2.2 *Turbinicarpus knutianus* Boed.

Mediante el diseño completamente al azar, se evaluó el efecto de dos concentraciones de BA (1.1 y 2.21 μM) combinadas en relación 10:1; con dos concentraciones de AIB (0.41 y 1.03 μM). Se tuvieron un total de 2 tratamientos cada uno con 20 repeticiones, considerando como repetición un frasco con 20 mL de medio MIB con cinco explantes.

3.7.2.3 *Turbinicarpus valdezianus* Moell.

Mediante el diseño completamente al azar, se evaluó el efecto de dos citocinas con dos niveles de concentración BA (0.66 y 1.1 μM) y Kin (0.46 y 1.16 μM) combinadas en relación 10:1. Se tuvieron un total de 4 tratamientos con 10 repeticiones, considerando un frasco con 20 ml de medio de cultivo con cinco explantes por repetición.

3.7.3 Evaluación de inducción de brotes

Para la evaluación de brotes se cuantificó el número de brotes por explante y altura en mm. La medición se realizó con una fracción de hoja milimétrica colocada bajo una caja petri. Se tomaron los datos correspondientes de cada especie para luego ser procesados.

Análisis Estadístico

Las variables evaluadas en el ensayo de germinación y en la etapa de inducción a brote se analizaron estadísticamente mediante el procedimiento GLM del Sistema de Análisis Estadístico SAS (SAS Institute, 1988), empleando los cuadrados medios del error, respectivas significancias obtenidas del análisis de varianza, así como las medias obtenidas para la prueba de comparación (Tukey ($P \leq 0.05$)).

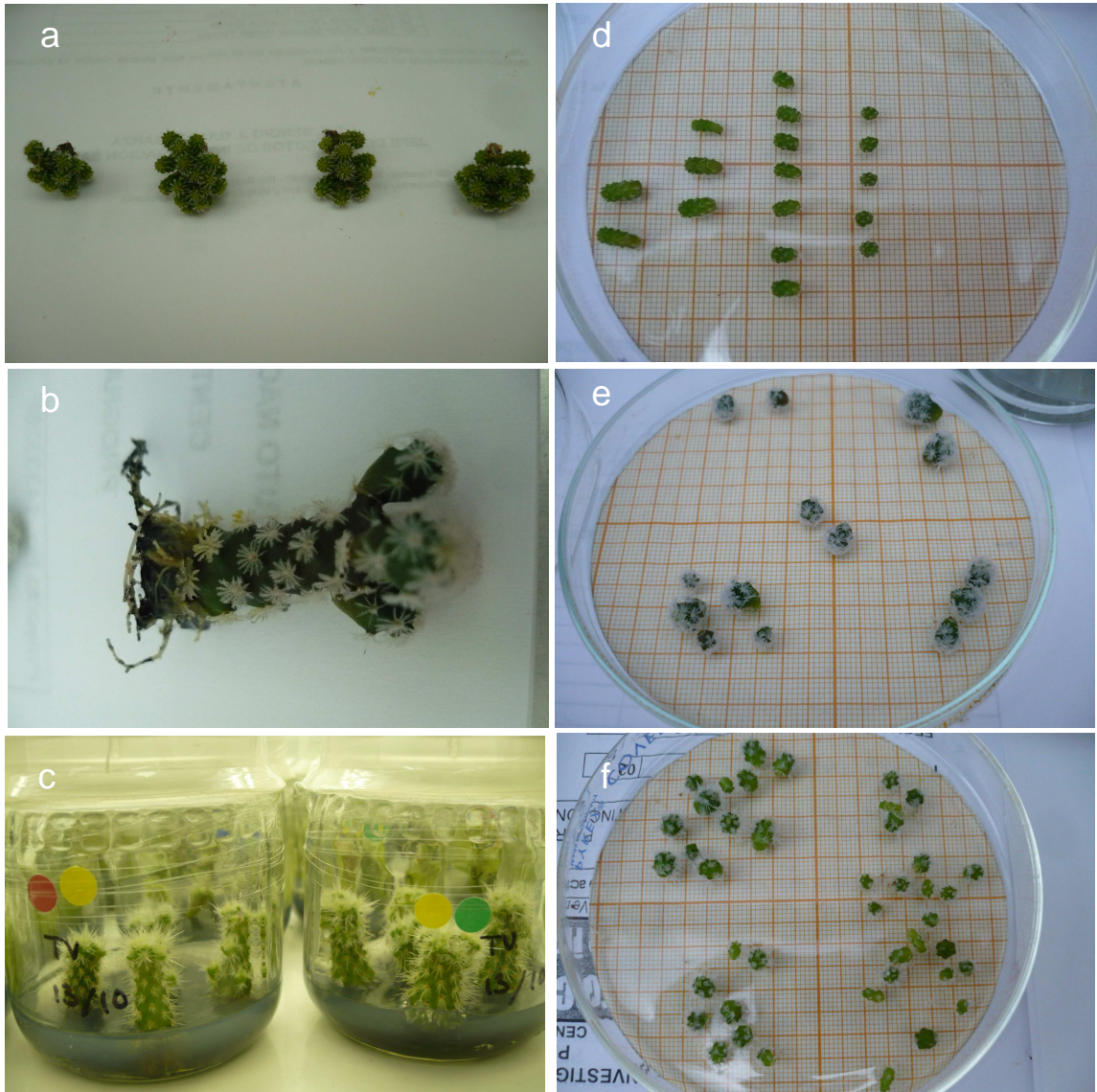


Figura 10. Evaluación de Inducción a Brotes. a), b) y c) - Plantas de las especies *E. micromeris*, *T. knutianus* y *T. valdesianuz* para su evaluación de inducción a brote. d), e) y f)- Evaluación de brotes en hoja milimétrica.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. GERMINACIÓN

4.1.1. PORCENTAJE DE GERMINACION

4.1.1.1. *Coryphantha poselgeriana* var. *saltillensis* Engelm.

Porcentaje de germinación (PG).- Con el tratamiento MBG1 = MS (Murashige and Skoog, 1962) al 100 % se obtuvo un PG = 86 %; a diferencia del medio MBG3 = MS al 25 % del que se obtuvo un 76 % (Cuadro 2). Los resultados muestran que la germinación es factible en los diferentes medios evaluados bajo condiciones *in Vitro*, por lo tanto se requiere de la adición de nutrientes y fitohormonas para promover la imbibición y activar el proceso de germinación de esta especie.

Cuadro 2. Porcentaje de germinación de *C. poselgeriana* var. *Saltillensis* Engelm. Primera y segunda evaluación.

Tratamiento	MEDIO MBG	Porcentaje de germinación	
		1er Evaluación	2da Evaluación
1	MS al 100 %	86.31 a	86.31 a
2	MS al 50 %	82.62 a	82.62 a
3	MS al 25 %	69.04 a	75.98 a
	DMS	18.73	17.81
	r ²	0.15	0.38
	CV	13.6	13.31
	Media	81.64	79.32

Valores con la misma letra dentro de las columnas no difieren significativamente (Tukey $P \leq 0.05$). DMS = Diferencia Mínima Significativa r^2 = Coeficiente de Determinación; C.V = Coeficiente de Variación

Para este caso Heras (1990), menciona que al germinar las semillas de varias cactáceas, encontraron que en *Mammillaria gumífera* se requiere de un tiempo mayor (90 días) para la germinación, registrando un 8%; mientras que Olvera (2005), determinó que en *M. glassii* se obtiene entre un 60 y 90% germinación, registrando el mayor porcentaje con el medio MS al 25% y MS al 100% respectivamente.

4.1.1.2. *Coryphantha speciosa* Engelm.

Porcentaje de germinación (PG).- En los tres tratamientos T1 (Testigo), T2 (al 50 %) y T3 (al 25 %) se obtuvieron resultados estadísticamente iguales obteniendo un 35 % de germinación (Cuadro 3). Esto muestra que las semillas de *C. speciosa* son viables; sin embargo, requieren de una mayor cantidad de fitohormonas para promover la germinación. Los resultados encontrados pueden estar influenciados al corto tiempo de almacenamiento, y a la dureza de testa, lo que hace suponer que estas semillas requieren de un tratamiento de escarificación previo al establecimiento al medio base de germinación (MBG).

Cuadro 3. Porcentaje de germinación de *C. speciosa* Engelm. Primera y Segunda evaluación.

Tratamiento	Concentración	Porcentaje de germinación	
		1er Evaluación	2da Evaluación
1	MS al 100 %	34.20 a	35.43 a
2	MS al 50 %	34.34 a	35.28 a
3	MS al 25 %	34.60 a	35.52 a
	DMS	9.93	9.87
	r ²	0	0
	CV	32.56	31.43
	Media	34.38	35.41

Valores con la misma letra dentro de las columnas no difieren significativamente (Tukey $P \leq 0.05$). DMS= Diferencia Mínima Significativa r^2 = Coeficiente de Determinación; C.V = Coeficiente de Variación.

Trejo y Garza (1993) encontraron que las semillas de *M. heyderi*, tienen un porcentaje de germinación muy bajo (10 %); mientras que Genis (2002), registraron una mayor respuesta germinativa en *M. haageana* y *Melocactus ruestii* registrando en ambas especies un PG de 90 y 97 % respectivamente, En contraste las semillas de *M. pectinifera* no pierden su viabilidad con el tiempo de almacenamiento, registrando a los doce meses de almacenamiento un PG del 95% (Burguete-Ruíz & Navarro 2004).

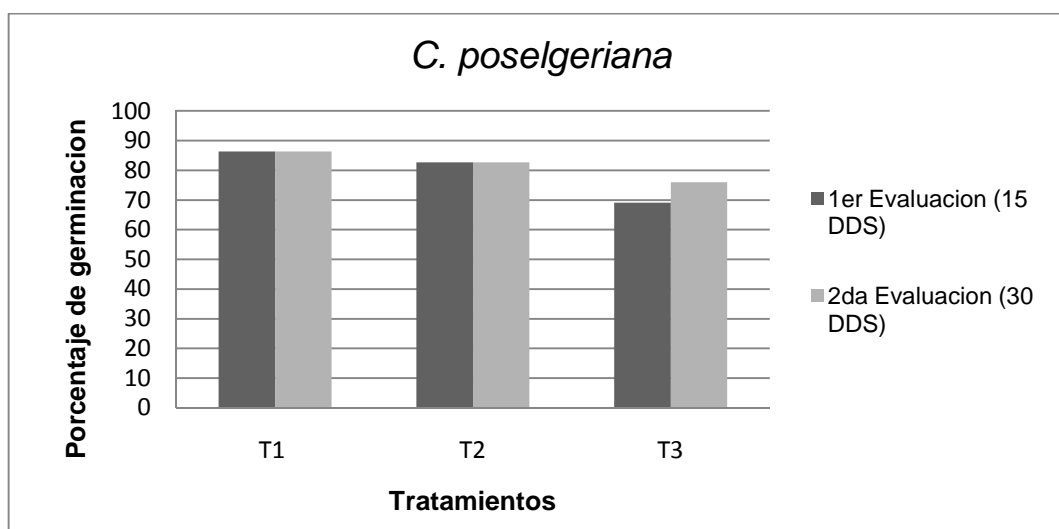
4.1.2. Velocidad de germinación

La velocidad de germinación se obtuvo mediante la evaluación del número de semillas germinadas en función del tiempo.

4.1.2.1. *Coryphantha poselgeriana* var. *saltillensis* Lem.

Velocidad de germinación (VG).- Durante los primeros 15 días de incubación existieron diferencias significativas en la velocidad de germinación en los diferentes medios de cultivo (MBG). El valor más alto se registro con el MBG T1 (Testigo) al 100 %, esta tendencia se mantuvo hasta el final de la evaluación (86 %). Se determino que la velocidad de *C. poselgeriana* estuvo mediada por el medio de cultivo, esto nos indica que las semillas presentan diferente grado de intensidad de letargo y que la semilla no presenta alto nivel de dificultad para germinar (Besnier, 1989). Como lo reportan D`Aubeterre *et al.*, (2006), para el caso de cardón de Guanajo, los tratamientos germinativos, incluyendo al testigo, dieron un porcentaje de germinación superior a 71.3 %. Quedando demostrado que algunas especies de cactáceas no necesitan estrictamente un proceso o tratamiento para promover su germinación. Sánchez (2004), obtuvo resultados favorables para la velocidad de germinación en cuatro especies de cactáceas al aplicar AG₃ a tres diferentes dosis (92 %).

Figura 11. Velocidad de germinación de *C. poselgeriana* var. *Saltillensis* Engelm. En diferentes medios de cultivo MBG (T1 = MS al 100 %; T2 = MS al 50 % y T3 = MS al 25 %).



Se puede observar que *C. poselgeriana* presenta el mismo comportamiento, en el T1 (Testigo) y el T2 (MS al 50 %), mientras que para el T3 (MS al 25 %) hubo una mínima diferencia en cuanto a la germinación, debido a la longevidad de las semillas; cabe mencionar que el PG en el medio MS se asemeja de una manera considerable entre tratamientos para la especie evaluada (Figura 11).

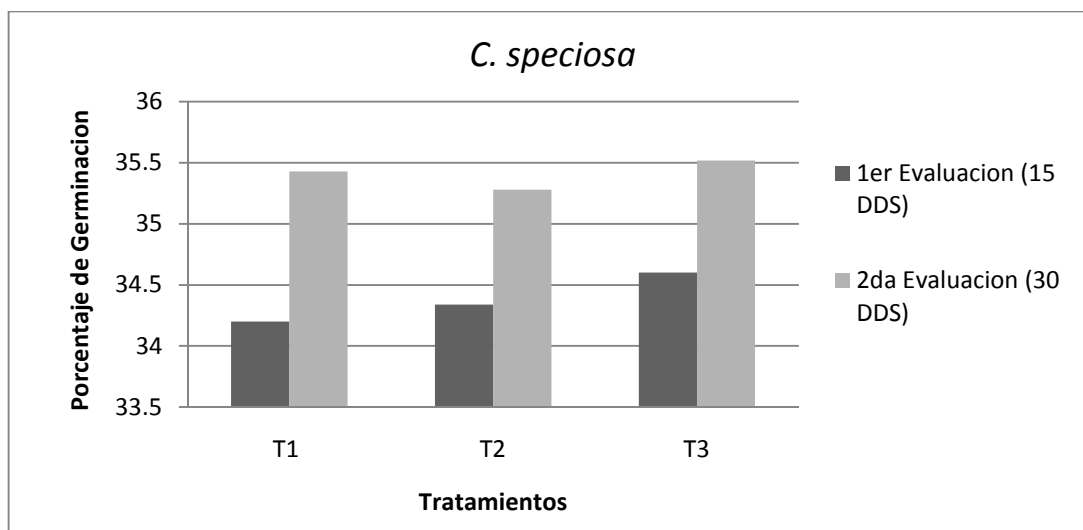
4.1.2.2. *Coryphantha speciosa* Engelm.

Velocidad de germinación (VG).- Para *C. speciosa* no se encontraron diferencias significativas en la velocidad de germinación, siendo que los tratamientos registraron un 34 % de germinación teniendo en cuenta que la velocidad de germinación fue más lenta, lo que significa que para esta especie se requieren de tratamientos pregerminativos previos al establecimiento al MBG como la escarificación, ya que esta semilla presenta una testa mas dura en comparación con *C. poselgeriana*. Estos resultados muestran que el tipo de testa impidió la absorción de agua, y por ser semillas silvestres recién colectadas probablemente presentaron un grado de letargo como lo refiere Rabenda, (1990) y Olvera (2005) quien al comparar nueve tratamientos con el medio MS; en *M. pottsii* encontró que ninguno supero el 20% de germinación.

El comportamiento en la germinación durante el tiempo de la evaluación fue similar en ambos tratamientos y el testigo, aunque no se observan cambios importantes en el numero de semillas germinadas, existió una mínima deferencia con el MBG (T3 al 25 %).

El proceso de maduración de las semillas silvestres se ve claramente afectado 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 bajos condiciones controlas (Gouvêa, 1983; Besnier, 1989; Rabenda, 1990).

Figura 12. Velocidad de germinación de *C. speciosa* Engelm. En diferentes medios de cultivo MBG (T1 = MS al 100 %; T2 = MS al 50 % y T3 = MS al 25 %).



4.2 INDUCCION DE BROTES

4.2.1 Inducción de Brotes en *Epithelantha micromeris*.

Los resultados del análisis de varianza muestran diferencias altamente significativas ($P \leq 0.05$) entre el tipo de fitohormonas (F) utilizadas para la inducción a brotes; con la cinetina (Kin) se obtuvo la mejor respuesta, teniendo un promedio en NB de 15 brotes por explante con una altura (A) de 3.0 mm, a diferencia de los explantes establecidos en BA, los cuales registraron menor cantidad de brotes pero presentaron una mayor altura de 6.0 a 7.0 mm en promedio.

Al analizar los tratamientos se determinó con la prueba de medias ($P \leq 0.05$), que existieron diferencias entre el tipo de citocinina y concentración utilizada para la inducción a brotes. Se encontró que el tratamiento T13 tiene un efecto positivo para la inducción a brotes, generando hasta 15 brotes por explante en un medio (MIB) adicionado con 1.2 mM de Kin + 1.03 x μ M de AIB; en cambio con el tratamiento T2, se obtuvieron 11 brotes por explante en un MIB con una baja concentración de BA 0.7 mM de BA + 0.06 μ M de AIB. Clayton *et al.*, (1990); Dabekaussen *et al.*, (1991); Rodríguez-Garay y Rubluo, (1992); Yassen-Mohamed (1995 a y b); y Gaspar *et al.*, (2003) mencionan que el efecto citocinínico depende no solo del tipo de explante

sino también de la fitohormona y concentración que se utilice y de la concentración de sales del medio de cultivo.

Estos resultados muestran que la BA es una fitohormona que tiene mayor poder citocinínico que la Kin requiriendo menores niveles de concentración para generar un respuesta, como lo han reportado Villavicencio *et al.*, (2000).

Altura de brotes (A): se registraron diferencias significativas entre fitohormonas, la que presento la mayor altura de brotes fue BA en el tratamiento T3 (7.35 mm), a diferencia de Kin que registro un valor estadísticamente igual a 3 mm (Cuadro 6).

Al analizar el efecto del tipo de fitohormona se observo que la altura de los brotes se reduce al aumentar su número de explantes, como sucedió en los Tratamientos T4 y T13, con 3 mm, respectivamente (Cuadro 6).

Cuadro 6. Tasa de multiplicación de *Epithelantha micromeris* Engelm.

Tratamientos	Concentración (μM)				NB	A
	mM		(μM)			
	BA	KIN	AIB	ANA		
0	0	0	0	0	1.22 f	0
1	0.5		0.04		10.44 bc	4.46 c
2	0.7		0.06		10.82 abc	5.97 b
3	0.9		0.81		5.83 de	7.35 a
4	1.1		1.03		11.24 abc	3.44 d
5	2.2		2.07		10.17 bc	2.81 ef
6	3.3		3.1		7.27 cde	2.15 g
7	4.4		4.13		7.89 cd	2.44 fg
8	0.7			0.15	10.26 bc	0
9	1.1			0.25	12.50 ab	0
10	2.2			0.5	10.33 bc	0
11	3.3			0.75	11.33 abc	0
12		0.5	0.41		3.54 ef	0
13		1.2	1.03		14.81 a	3.43 d
14		2.3	2.07		13.00 ab	3.35 de
15		3.5	3.31		5.83 de	3.04 de
16		4.6	4.13		14.78 a	3.25 de
				DMS	1.23	1.1
				r^2	0.63	0.43
				CV	11.46	19.66
				Media	11.96	3.33

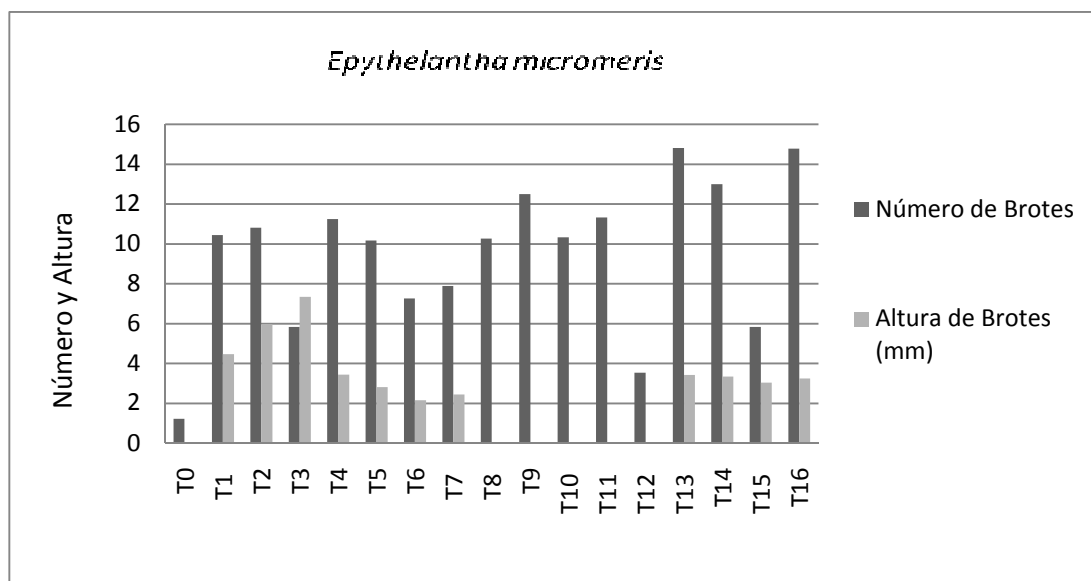
Valores con la misma letra dentro de las columnas no difieren significativamente (Tukey $P \leq 0.05$). NB= Número de brotes; A=Altura DMS= Diferencia Mínima Significativa r^2 = Coeficiente de Determinación; C.V = Coeficiente de Variación.

Figura 13. Brotes obtenidos en la etapa de multiplicación de *Epithelantha micromeris* Engelm.



Estos resultados muestran que la altura de los brotes son generados con BA son menores que los generados con Kin. Velázquez y Soltero (2001), encontraron que las fuentes de citocinina (Kinetina y 2IP) presentaron efectos altamente significativos sobre la producción de brotes de *Epithelantha micromeris* var. *micromeris*. Dabekaussen *et al.*, (1991), mencionan que la citocinina BAP es un requisito esencial para la activación de areolas, lo que permite llevar a cabo la micropropagación de *Sulcarebutia alba*.

Figura 14. Comparación de medias para número de brotes/explante de *E. micromeris* Engelm. En medio adicionado con diferentes concentraciones de fitohormonas.



4.2.2 Inducción de brotes en *Turbinicarpus knuthianus* Boed.

Existen diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre el tipo de fitohormonas (F) utilizadas para la inducción de brotes; con la cinetina (Kin) se obtuvo la mejor respuesta, con un NB promedio de 6.0 brotes por explante con una altura (A) de 6.0 mm, a diferencia de los explantes establecidos en BA, los cuales registraron 30% menor cantidad de brotes con una altura de 5 mm en promedio (cuadros 7 y 8).

Al comparar este efecto con el tratamiento sin fitohormonas se comprobó que de forma endógena *T. knuthianus* es capaz de producir brotes; sin embargo, su regeneración es baja (2.33 brotes por explante) (Cuadro 8).

Al analizar los tratamientos como efectos independientes se determinó, con la prueba de medias ($P \leq 0.05$), que el tratamiento T12 tiene un efecto positivo en la inducción de brotes, hasta 10 brotes por explante en un medio (MIB) adicionado con 4.40 mM de BA + 4.13 x μ M de AIB. Lo anterior contrasta con el tratamiento T2, en el cual se obtuvieron 9 brotes por explante en un MIB con una baja concentración de KIN 0.46 mM de KIN + 0.61 μ M de AIB. Los resultados muestran que la concentración de citosina-auxina en una relación 10:1 es positiva para la inducción de brotes; aunque

su efecto depende del tipo de fitohormona que se utilice. A diferencia de lo sucedido con el tratamiento sin fitohormona, en el que se tuvo el menor número de brotes.

La interacción citosina-auxina ha sido efectiva en la organogénesis directa de 21 especies de cactáceas mexicanas, como lo refieren Pérez *et al.*, (1998) y Mata *et al.*, (2001), entre ellas las del género *Turbinicarpus*, cuando se utilizaron de 8.8-13.31 mM de BA y 0-2.6 μ M de ANA en medio de cultivo MS (Murashige y Skoog, 1962).

Altura de brotes (A).- Se registraron diferencias significativas entre los tratamientos con y sin fitohormona, éste último presentó la mayor altura de brotes (8.22 mm), a diferencia de los tratamientos con fitohormonas, mismos que registraron un valor estadísticamente igual a 6 mm, cuando se utilizó cinetina (KIN) (Cuadro 9, Figura 15).

Al analizar el efecto del tipo de fitohormona se observó que la altura de los brotes se reduce al aumentar su número de explantes, como sucedió en los tratamientos T2 y T12, con 4 y 3 mm, respectivamente (Cuadro 9).

Un efecto opuesto se obtuvo cuando se utilizó BA, en los que el número y altura de los brotes se incrementa conforme se aumenta la concentración de la citocinina, de tal manera que con la concentración entre 0.66 a 3.3 mM de BA el número máximo de brotes por explante fue de cuatro con una altura superior a 5 mm; sin embargo, con la concentración más alta (4.40 mM de BA), la tasa de multiplicación es más del doble, pero los brotes son de menor tamaño (3 mm en promedio) (Cuadro 9). Algo similar se presentó en *Mammillaria sanangelensis*, cuando se utilizó una concentración alta de fitohormona (4.4 mM de BAP + 0.53 μ M de ANA), la cual indujo la generación de 21 brotes por explante, con una altura menor a 3 mm (Martínez-Vázquez y Rubluo, 1989).

Cuadro 9. Tasa de multiplicación de *T. knuthianus* Boed.

TRATAMIENTOS	Concentración (μM)			NB	A
	Mm		(μM)		
	KIN	BA	AIB		
0	0	0	0	2.33 h	8.22 a
1	0.46		0.041	6.77 c	5.70 ab
2	0.69		0.061	8.66 b	4.64 b
3	1.16		0.103	6.24 cd	4.74 b
4	2.32		0.207	5.77 cde	6.54 ab
5	3.48		0.310	5.04 def	6.97 ab
6	4.64		0.413	5.37 cdef	6.49 ab
7		0.44	0.041	3.86 hg	6.82 ab
8		0.66	0.061	3.36 hg	4.55 b
9		1.10	0.103	3.4 hg	4.92 b
10		2.21	0.207	4.29 fge	5.34 ab
11		3.30	0.310	3.9 fg	6.09 ab
12		4.40	0.413	10.87 a	3.35 c
			DMS	1.23	1.10
			r^2	0.53	0.29
			CV	23.61	21.12
			Media	4.43	5.40

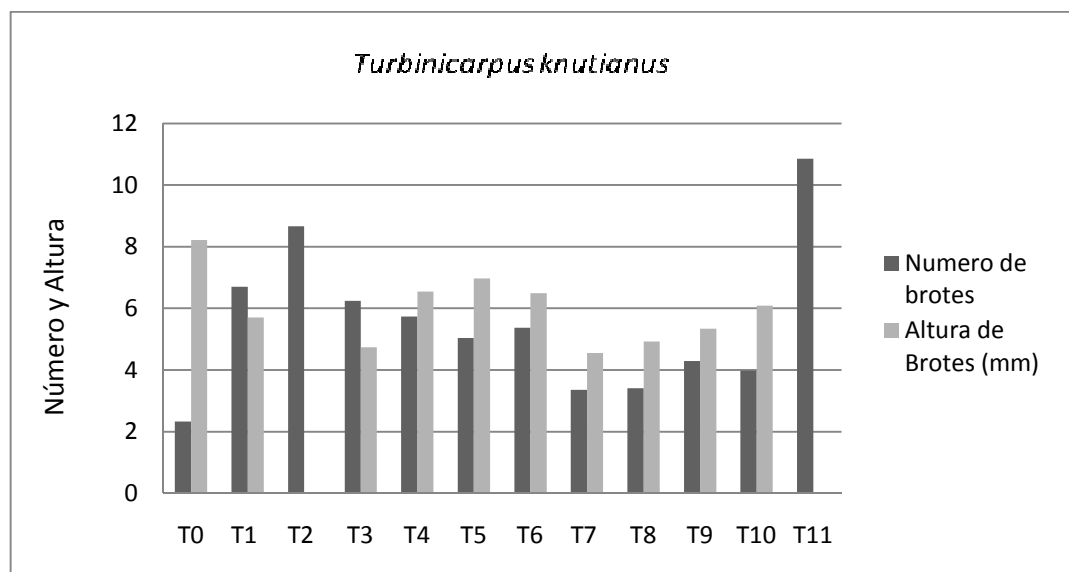
Valores con la misma letra dentro de las columnas no difieren significativamente (Tukey $P \leq 0.05$). NB= Número de brotes; A= Altura DMS= Diferencia Mínima Significativa r^2 = Coeficiente de Determinación; C.V = Coeficiente de Variación.

Figura 15. Brotes obtenidos en la etapa de multiplicación de *T. knuthianus* Boed.



Con base en los resultados obtenidos se puede decir que el control hormonal influye en la diferenciación del explante como lo refieren Mauseth (1976; 1979), y se demuestra que la regeneración de brotes *in vitro* de *T. knuthianus* es posible inducirla a partir de yemas axilares; así mismo, la eficiencia del método de propagación se expresa en el número de brotes por explante (Vyskot y Jara, 1984; Martínez-Vázquez y Rubluo, 1989; Clayton *et al.*, 1990 y Dabekaussen *et al.*, 1991).

Figura 16. Comparación de medias para número de brotes/explante de *T. knuthianus* Boed. En medio adicionado con diferentes concentraciones de fitohormonas.



También se determinó que la micropropagación de *T. knuthianus* ocurre si al medio de cultivo (MIB) se le agregan fitohormonas, ya que sus yemas axilares presentan letargo, con meristemos axilares quiescentes con potencial mitótico activo en cada una de sus zonas (a.- célula madre central, b.- zona periférica y c.- meristemo), en donde es posible desarrollar primordios fotosintéticamente normales, llamados brotes, tal como lo determinó Mauseth (1976: 1979), quien fue el primero en evaluar este efecto en cactáceas.

La tasa de multiplicación de *T. knuthianus* es exponencial y varía dependiendo de la fitohormona que se utilice, siempre que se mantenga una relación 1:8:8:8; del medio de cultivo (MIB) adicionado con 0.69 mM de Kin + 0.61 μ M de AIB. Los valores para esta variable fueron superiores al citado por Dávila *et al.*, 2005 y Clayton *et al.*, (1990) en *Escobaria missouriensis* (Sweet) D.R. Hunt, *Pediocactus paradinei* B. W. Benson y *Toumeyia papyracantha* (Engelm) Britton *et Rose*, cuya tasa de multiplicación máxima fue de 6.0 brotes por explante.

En el caso de la cactácea estudiada la máxima tasa de multiplicación en relación de 1:10:10:10 se obtiene *in vitro* en un medio de cultivo MIB con 4.4 mM de BA+ 0.413 μ M (relación 1:10:10:10). Cifra semejante a la que se ha registrado en especies de los géneros: *Coryphantha*, *Echinocereus* y *Mammillaria* (Clayton *et al.*, 1990) y en *Astrophytum myriostigma* Lem. (Villavicencio. 2009), pero que supera a la consignada en otras especies de cactáceas mexicanas como *Mammillaria voburnensis* Scheer y *Mammillaria elongata* DC. (Ordoñez, 2003; Papafotiou *et al.*, 2001).

4.2.3 Inducción de brotes en *Turbnicarpus valdezianus* Moell.

No existen diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en el tipo de fitohormonas utilizadas para la inducción a brotes; ya que con la cinetina (Kin) y (BA) se obtuvieron resultados estadísticamente iguales registrando en promedio 9.0 brotes por explante con una altura de 6.0 mm, (Cuadro 10 y 11).

Al analizar los tratamientos como efectos independientes se determinó, con la prueba de medias ($P \leq 0.05$), que el tratamiento T4 tiene un efecto positivo en la inducción de brotes, obteniendo 10 brotes por explante en un (MIB) adicionado con 2.21 mM de BA + 0.207 x μ M de AIB. Lo anterior tiene relación con el tratamiento T1, del cual se obtuvieron 9 brotes por explante en un MIB con una baja concentración de Kin 1.16 mM de Kin + 0.103 x μ M de AIB. Los resultados muestran que la concentración de citocinina-auxina es positiva para la inducción a brotes, aunque algunas veces su efecto depende del tipo de fitohormona que se utilice.

Al comparar el efecto de ambas citocininas (BA y Kin) en la inducción a brotes, se encontró que ambos tratamientos tuvieron el mismo efecto citocininico (Cuadro 11). Sin embargo, un efecto contrario ocurrió con el género *Turbinicarpus*, en donde se encontraron resultados significativos con 1 mg/L^{-1} de Kin sobre 3 mg/L^{-1} de BA en la inducción de brotes, registrando un promedios de 3.04 y 2.54, respectivamente (Escobedo *et al.*, 2000).

Altura de brotes (A).- Se registraron diferencias significativas entre los tratamientos, teniendo que BA presento 7 mm de altura de brotes, a diferencia de cinetina (Kin) que registro una altura de 6 mm (Cuadro 12).

Un efecto opuesto se obtuvo cuando se utilizó BA, en los que el número y altura de brotes se incrementa conforme aumenta la concentración de citocinina, de tal manera que la concentración 1.1 mM de BA, el máximo número de brotes por explante fue de nueve con una altura de 7 mm; sin embargo con la concentración más alta 2.21 mM el número de brotes fue de diez con una altura de 7 mm (Cuadro 12). Al utilizar una baja concentración de BA ($11.01 \text{ }\mu\text{M}$) se genera un número mayor de brotes; a diferencia de Kin en donde para generar este mismo tipo de efecto se requiere duplicar la concentración ($23.23 \text{ }\mu\text{M}$) Estos resultados muestran que BA es una fitohormona que tiene mayor poder citocininico que la Kin requiriendo menores niveles de concentración para generar respuesta como lo han reportado (Villavicencio *et al.*, 2000).

Rosales (2005), obtuvo la mayor cantidad de brotes por explante en los tratamientos de Zeatina (1 mg/l) con 5.95 brotes, BAP (1 mg/l) con 4.9 brotes y Kinetina (1 mg/l) con 4.2 brotes por explante, todos sin presencia de auxina.

Cuadro 12. Tasa de multiplicación de *T. valdezianus* Moell.

Tratamientos	Concentración (μM)			NB	A
	mM		(μM)		
	KIN	BA	AIB		
1	1.16		0.103	9.51 a	6.27 b
2	2.32		0.207	9.30 ab	6.32 b
3		1.1	0.103	8.92 b	7.27 a
4		2.21	0.207	9.67 a	7.08 a
			DMS	0.55	0.39
			r^2	0.14	0.28
			CV	26.21	25.82
			Media	9.36	6.72

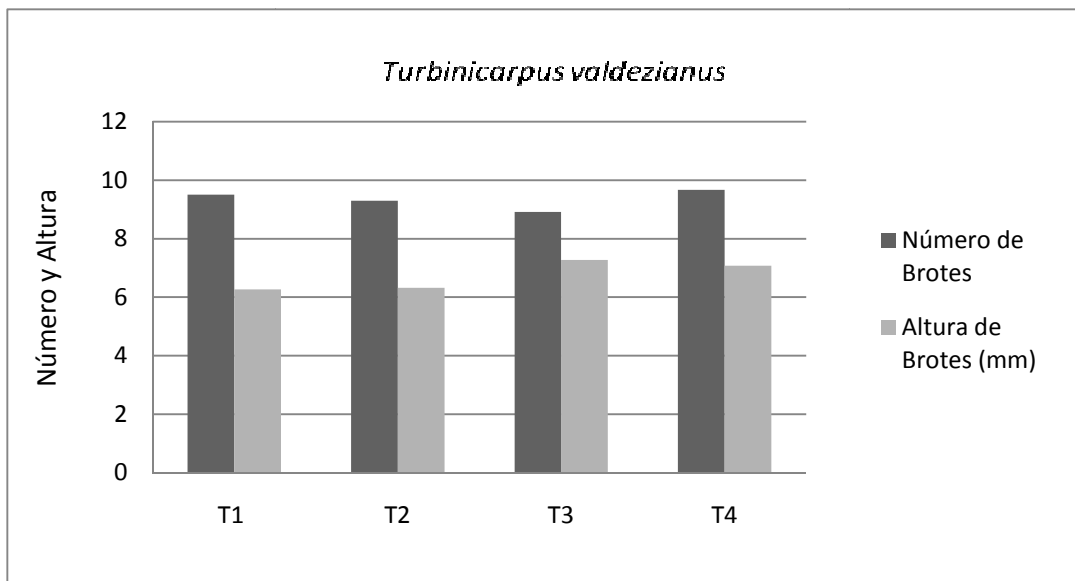
Valores con la misma letra dentro de las columnas no difieren significativamente (Tukey $P \leq 0.05$). NB= Número de brotes; A=Altura DMS= Diferencia Mínima Significativa r^2 = Coeficiente de Determinación; C.V = Coeficiente de Variación.

Figura 17. Brotes obtenidos en la etapa de multiplicación de *T. valdezianus* Moell.



Los resultados muestran que la altura de los brotes generados con BA son de mayor tamaño a los generados con Kin. Por lo tanto se puede decir que al utilizar BA se obtiene una mayor efectividad para la micro propagación de esta especie.

Figura 18. Comparación de medias para número de brotes/explante de *T. valdezius* Moell. En medio adicionado con diferentes concentraciones de fitohormonas.



5. CONCLUSIONES

1. El MBG se puede utilizar para inducir la germinación *in vitro* de cactáceas en estatus de riesgo de tipo ornamental.
2. Existen diferencias en la germinación *in vitro* entre especies del mismo género. Con *Coryphantha poselgeriana* var. *saltillensis* se obtuvo un porcentaje de germinación *in vitro* de 86 %; mientras que con *Coryphantha speciosa* el porcentaje de germinación fue menor (35 %).
3. En cactáceas el MIB utilizado es factible para inducir la activación de yemas axilares y generar brotes *in Vitro*, existiendo entre especies diferencias en el tratamiento que promueve la inducción de brotes.
4. Con *Epithelantha micromeris* la relación Cinetina (Kin), Acido indolbultírico (AIB), Bencilaminopurina (BA) y Acido indolbultírico (AIB) en diferente proporción promueven un mayor número de brotes. El MIB adicionado con 1.2 mM de Kin + 1.03 x μ M de AIB genero la mayor tasa de multiplicación, registrando 15 brotes/explante con una altura promedio de 3 mm. A diferencia 0.7 mM de BA + 0.06 x μ M de AIB en donde se generaron 11 brotes/explante con una altura promedio de 6 mm.
5. Con *Turbinucarpus knutianus* la relación cinetina (Kin)-ácido indolbultírico (AIB) y bencilaminopurina (BA)-ácido indolbultírico (AIB) en diferente proporción promueven el desarrollo de un mayor número de brotes *in vitro*. El MIB adicionado con 0.69 mM de Kin + 0.061 μ M de AIB generaron una tasa de multiplicación promedio 9 brotes/explante con una altura de 5 mm. A diferencia del MIB adicionado con 4.4 mM de BA + 0.41 x μ M de AIB del que se obtuvieron en promedio 11 brotes/explante con una altura de 3 mm.

6. La relación cinetina (Kin)-ácido indolbultírico (AIB) y bencilaminopurina (BA)-ácido indolbultírico (AIB) adicionada al MIB tienen en ambos casos un efecto positivo en la inducción de brotes de *Turbinicarpus valdezianus*. Con esta especie se obtuvieron resultados estadísticamente iguales en el MIB adicionado con 1.16 mM de Kin + 0.10 μ M de AIB y 2.2 mM de BA + 0.20 \times μ M de AIB generando una tasa de multiplicación promedio 10 brotes/explante con una altura superior a 6 mm.

6. LITERATURA CITADA

- Acevedo C., M. A. 2009. Enraizamiento *in Vitro* y Aclimatización de *Mammillaria haageana* subsp. *san-angelensis* y *Obregonia denegrii*. Tesis de Licenciatura. U. A. A. A. N. Saltillo, Coahuila, México. 67 p.
- Álvarez 1986. Efecto de tres fitoreguladores y escarificación en la germinación de seis especies de cactáceas del noreste de México. Tesis de Licenciatura. U. A. A. A. N. Saltillo, Coahuila, México. 85 p.
- Arenas T., A. Tonatiuh, E. Monroy, R. Mata, B. Martín, A. Jiménez, y G. Chávez. 2003. Regeneración *in vitro* de *Turbincarpus pseudopectinatus*. XV Congreso Mexicano de Botánica. Conservación y Manejo de Recursos. Biotecnología vegetal. 4 (1): 43 – 48 p.
- Barthlott, W. 1979. Cacti. Stanley Thornes (Publishers). 249 p.
- Besnier R., F., 1989. Semillas Biología y Tecnología. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 637p.
- Bravo H., H., 1978. Las cactáceas de México. Volumen I. Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México. 2a Edición. 743 p.
- Bravo H., H., H. Sánchez, y R. Mejorada. 1991. Las Cactáceas de México. Volumen II. Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México. 1ra Edición. 404 p.
- Burdman S., E. Jurkevilch y Y. Okon. 2000. Recent advances in the use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in agriculture. En: Microbial interaction in agriculture and forestry. 2: 227 – 248.
- Burguete-Ruíz, D. A. & M. C. Navarro. 2004. Estudios preliminares de germinación en *Mammillaria monticola*. IV Congreso Mexicano y III Latinoamericano y del Caribe de Cactáceas y otras suculentas. Guadalajara, Jalisco, México. p. 168.

- Buxbaum, F. 2000. Morfology of cacti Section III. Fruits an seed. Abbey Garden Press. Pasadena. U. S. A.
- Caballero-Mellado, J. 2000. El Genero *Azospirillum*. Capitulo 10: En: Microbios. México. 150 p.
- Camacho-Morfin, F. 1994. Dormición de semillas. Causas y tratamientos. Editorial Trillas. Primera edición. México, D. F. 9-86 p.
- Castañeda S., E. E. 2004. Aclimatización de *Mammillaria plumosa in Vitro*. Tesis de Licenciatura. U. A. A. A. N. Saltillo, Coahuila. México. 127 p.
- Challenger, A. 1998. Utilización y Conservación de los Ecosistemas Terrestres de México. Pasado, Presente y Futuro. Primera edición. CNCUB, IB (UAEM) y Agrupación Sierra Madre, S. A. México. 619-724 p.
- Choreño-Tapia J., M., R. González H., T. Terrazas-Salgado., L. Hernández A. 2002. Propagación *in vitro* de *Cephalocereus senilis* Haworth Pfeiffer a partir de areolas. Revista Chapingo. Serie Horticultura 8 (2): 183 -196 p.
- Clayton P., W., J. Hubstenberger F. and G. Phillips C. 1990. Micropropagation of Members of the Cactaceae Subtribe Cactinae. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 115 (2): 337-343 p.
- Clayton, P. W., J. F. Hubstenberger and G. Phillips C. 1990. Micropropagation of members of the Cactaceae subtribe Cactinae. J. Amer. Soc. Hor. Sci.115(2):337-343.
- Cruz-Hernández J., P. 1997. Otras cactáceas de importancia económica en México, por su producción de frutos comestibles. Memorias del VII Nacional y V Internacional congreso sobre conocimiento y aprovechamiento del Nopal. Monterrey, N. L. México. 70-80 p.
- Dabekaussen, M. A. A.; R. L. M. Pierik, J. D. Van der Laken and J. Hoek Spaans. 1991. Factors affecting areole activation *in vitro* in the cactus *Sulcorebutia alba*. Rausch. Sci. Hort. 46:283-294.

- Dabekaussen, M. A. A.; R. L. M. Pierik, J. D. Van Der Lancken and J. Hoek Spaans. 1991. Factors Affecting Areole Activation *in vitro* in the Cactus *Sulcorebutia alba* Rausch. Hort. Sci. 46: 283-294 p.
- Daquinta G. M. L. 2000. Algunos elementos en la micropropagación de la Teca. Biotecnología Vegetal. 1: 39 - 44 p.
- Engleman E., M., 1960. Ovule and seed development in certain cacti. American Journal Botany. 47 (6): 460 - 467 p.
- Escobedo B. L., H. T., García O. y Rubén R. M. 2000. Propagación *in vitro* de *Turbinicarpus valdezianus* (MOLLER) GL&F. XVIII Congreso Nacional. Memoria de la Sociedad Mexicana de Fitogenética. Universidad de Guanajuato. Irapuato, Guanajuato. pp.: 330.
- Espitia H., O. M. 2005. Aclimatación de *Turbinicarpus valdezianus* propagada *in vitro*. Tesis de Licenciatura. U. A. A. A. N. Saltillo, Coahuila. México. 51 p.
- Estrada-Luna, A. A., Davies, J. y Fred, T. 2008. Estado nutrimental y crecimiento de plantas micropropagadas de nopal (*Opuntia albicarpa* Scheinvar cv. "Reyna") colonizadas con tres cepas seleccionadas de endomicorrizas. Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía y Museo Bernabé de las Casas. Mina, Nuevo León, México. 79 p.
- Fahn, A. 1978. Anatomía vegetal. Ed. Blume. H. Madrid España. 130 p.
- Fernández-Vega, Z. 1995. Evaluación de la capacidad fijadora *in Vitro* e *in vivo* de dos cepas de *Azospirillum* en plantas de caña de azúcar (*Sacharum officinarum*) y maíz (*Zea mays*). [Tesis Maestría], Universidad de México. 112 p.
- Flores, A. 2005. Guía de Cactáceas del Estado de Coahuila. ECOAH, SEP, Jardines Para la Humanidad, A. C. y Gobierno de Coahuila. México, Coahuila. 12 – 25, 134 y 138 p.

- García, E. 2001. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koppen. UNAM, México. 246 p.
- García, O. y Malda, M. 2008. Conservación *in situ* y *ex situ* de *Mammillaria mathildae*, cactácea endémica en peligro de extinción de la ciudad de Querétaro. Publicación de investigación de posgrado de la Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro. México. 2 (1): 56 – 73 p.
- Gaspar T. H., C. Kevers, O. Faivre-Rampant, M. Crevecoeur, C. Penel L., H. Greppin y J. Dommes. 2003. *In vitro* Cell. Dev. Biol. Plant. 39: 85- 106 p.
- Genis, M. F. 2002. Estudio sobre germinación y crecimiento de plántulas en *Mammillaria haageana* y *Melocactus ruestii*. Tesis profesional. Escuela de Biología. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. 76 p.
- George E., F. 1996. Plant Propagation by Tissue Culture. Part 1. The Technology. 2nd Edition. British Library Edigton. England. 4-7 p.
- Gómez J., R. Romero, B. Jiménez y A. Monroy. 2003. Regeneración *in vitro* de *Ariocarpus bravoanus* Hernández & Anderson, especie endémica mexicana en peligro de extinción. XV Congreso Mexicano de Botánica. Conservación y Manejo de Recursos. Disponible en: <http://www.Socbot.org.mx/disco/resumen/re680m> (Junio de 2010).
- Guiñazu M., E., M. T. Ponce, J. Guzmán, J. E., M. A. Cirrincione. 2005. Micropropagación de vid: protocolo para variedades; Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. 37(2): 93-103 p. http://bdigital.uncu.edu.ar/bdigital/fichas.php?idobje_to=787. Fecha de Consulta (Septiembre, 2008).
- Hartmann T., H. y H. Ramírez. 1993. Propagación de Plantas Principio y Prácticas. Ed. CECOSA. México. 67 p.
- Hartmann, H. y Kester, D. E. 1999. Propagación de plantas Ed. Continental S. A. de C. V. México. 760 p.

- Hernández, E. O. M. 2005. Aclimatación de *Turbincarpus valdezianus* propagada *in vitro*. Tesis de Licenciatura. Saltillo, Coahuila, México. 51 p.
- Hernández, R. 1997. Obtención de plantas libre de patógenos. Curso Teórico-Practico de Propagación Masiva de Plantas. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Citado por Sosa, (2004). 31-43 p.
- Hill, T. A. 1977. Hormonas reguladoras del crecimiento vegetal. Ed. Omega. Barcelona, España. 94 p.
- Hurtado, M. V. D. y Merino, M. M. E. 2000. Cultivo de Tejidos Vegetales. Ed. Trillas. México. 35 – 92 p.
- IMGEMA. 2008. Técnicas de cultivo *in vitro*. Jardín de Cordoba. España. www.jardinbotanicodecordoba.com/inves_cons_cult_invi.php. Fecha de Consulta (Septiembre 2008).
- Jiménez, E. 1998. Generalidades del cultivo *in Vitro* (Capitulo 1) En: Propagación y mejora de las plantas por Biotecnología de las Plantas. 13-22 p.
- Jiménez, R. J. A., M. R. Martín y C. A. Víctor Manuel. 2001. Micropropagación de *Astrophytum myriostigma* Lem. Instituto de Ecología A. C. e Instituto de Biología, UNAM. XV Congreso Mexicano de Botánica. Querétaro. México. Disponible en: <http://www.socbot.org.mx/resumenes/resumen46.html> Fecha de Consulta (Agosto 2001).
- Kirdmanee, C., C. Kitaya y T. Kozai. 1994. Rapid acclimatization on *in Vitro* plantlets by controlling photosynthetic photon flux density and relative humidity ex vitro. In: T. Kozai; Y. Kitaya; C. Kubota. (eds). Collected papers on environmental control in micropropagated. Editorial Gemhua. 3: 957-958 p.
- León, J. 2006. Cactáceas. 180 p. Disponible en: www.suculentas.com/familias/cactaceas/index.php. Fecha de Consulta (Septiembre 2004).

- López, G., J. J., B. Pimienta A, U. Muñoz M, R. Rivera J. M. y R. Fuentes. 1977. Evaluación Anatómica del Nopal (*Opuntia* spp.) en Saltillo, Coahuila, México. Memorias del VII Congreso Nacional y V Internacional Sobre Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. FAO y FAUANL. Monterrey, N. L. México. 317 p.
- Loza-Cornejo, S. et al. 2001. Características morfológicas y germinación de semillas en especies de *Pachycereae* (Cactaceae). XV Congreso Mexicano de Botánica. Botánica Estructural. Edición en CD. Sin número.
- Malda, G., Suzan, H. y Backhaus, R. 1999. *In vitro* cultura as a potential, method for the conservation of endangered plants possessing crassulacean acid metabolism. *Scientia Horticulture*. 81: 71 – 87 p.
- Martínez-González J., C., 1997. La pitaya (*Stenocereus griseus* Haworth) una opción productiva y económica para la región de la mixteca. Memorias del VII Nacional y V Internacional congreso sobre conocimiento y aprovechamiento del Nopal. Mty, N. L., México. 253 p.
- Mata, R. M., Monroy-De La Rosa, M., Goldammer, K.M., Chávez-Ávila, V.M. 2001. Micropropagation of *Turbinicarpus laui* glass et Foster, an endemic and endangered species. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* 37: 400-404.
- Mauseth J., D., 1976. Cytokininn and giberellic acid-inducet effects on the structure and metabolism of shoot apical meristems in *Opuntia policantha* (Cactaceae). *American Journal Botany* 63: 1295 – 1301 p.
- Mauseth J., D., 1979. A new method for the propagation of cacti: sterile culture of axillary buds. *Cactus Succulent Journal* 51: 186 – 187 p.
- Mauseth, D. J. 1979. A new method for the propagation of cacti: sterile culture of axillary buds. *Cact. and Succ. J.* (51): 186-187.
- Mauseth, D., J. 1978. An investigation of the phylogenetic and ontogenetic variability of shoot apical meristems in the Cactaceae. *Amer. J. Bot.* 65(3): 326-333.

- Mauseth, J. D. and W. Halpering. 1975. Hormonal control of organogenesis in *Opuntia polycantha* (Cactaceae). American Journal Botany 62: 869 – 877 p.
- Medina E., R., 1977. Introducción a la Ecofisiología Vegetal. Organización de los Estados Americanos. Washinton. D. C. 7-8 p.
- Montalvo G., E. Quiala, R. Mederos, J. Matos, M. De Feria, M. Chávez y O. Placencia. 2004. Propagación *in Vitro* de *Pilosocereus* sp. Biotecnología Vegetal. 4 (1): 43-48 p.
- Morales C., C. De la Fe C. y M. Calaña. 2009. Estudio de la Aclimatización de vitroplantas de anturio (*Anthurium andreanum* lin.). Cultivos Tropicales. 30 (4): 48-51 p.
- Morales-Rubio M., E., J. Treviño-Neávez F, M. Cárdenas-Ávila L, R. Cavazos-González. 2000. Germinación *in Vitro* de cactáceas. Memorias del V Simposio de Ciencia y Tecnología. SEP-CONACYT. 58 p.
- Moreno P., N., J. López J, y L. Arce. 1992. Aspectos sobre las semillas y su germinación de *Echinomastus mariposensis* (Hester). Cact. Suc. México. 37 p.
- Mriskii, V. 1985. Nota sobre nuevos métodos para germinar semillas de cactus. Cactáceas y Suculentas de México. 3 (3): 65 - 66 p.
- Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue cultures. Ann. Rev. Plant Physiol. 25: 135-166.
- Nobel P., S., 1998. Los incomparables Agaves y Cactus. Ed. Trillas. México. 211 p.
- NOM-059-ECOL-2001. Norma Oficial Mexicana. Protección Ambiental-Especies Nativas de México de Flora y Fauna Silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación. D. F. México.

- Olvera C., 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. U. A. A. N. Saltillo, Coahuila. México. 47 p.
- Ordoñez M., M. A. 2003. Propagación *in vitro* de *Mammillaria voburnensis* Scheer. (Cactaceae) Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala. 70p.
- Orellana, P. 1998. Introducción a la Propagación Masiva. (Capítulo 7). En: Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología. Editado por Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central de las Villas. Santa Clara, Cuba. 125 – 132 p.
- Ortiz, R. 2000. Factores que afectan el desarrollo de vitroplantas de caña de azúcar en la fase adaptativa. La Habana: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. ISBN: 959-7023-12-1. 36 p.
- Otero, N. L. y D. Dolam Po. M. 1998. Micropropagation of olive (*Olea europea* L) cv. Arbequina from juvenile cuttings. *Prhyton* 63 (1/2): 133-140 p.
- Papafotiou M., G. Balotis N., T. Panayioti L. and J. Chronopoulos. 2001. *In vitro* plant regeneration of *Mammillaria elongata* normal and cristate forms. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 65: 163-167, 2001.
- Paredes, A. R., T. R. Van Devender, R. S. Felger. 2000. Cactáceas de Sonora, México: su diversidad, uso y conservación. Ed. IMADES-ASDM Prees. 143 p.
- Pelacho A. A., L. M. Closas, C. Bladovino. R. M., J. Lolp. S., J. Solans. B., G. Valls. A. 2008. Medio de Cultivo. 56 p.
- Pérez P. J. N., E. Jiménez y D. Agramonte. 1998. Propagación masiva en Biofabrica (Capítulo 14). En: Propagación y Mejora de Plantas por Biotecnología. Editado por el Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central de las Villas. Santa Clara, Cuba. 168 p.

- Pérez, G. F. y L. Martínez J. B. 1994. Introducción a la Fisiología. Ed. Mundi-Prensa. España. 155 – 160 p.
- Pérez, M. B., E. Villalobos, E., Meza, E., Morone, S. L.R., Lizalde, J. 1998. Propagation of 21 species of Mexican cactus by axillary proliferation. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* 34: 131-135.
- Pierik R., N. M. 1990. Cultivo *in Vitro* de las plantas superiores. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España. 326 p.
- Pilbeam, J. 1980. Seed raising. The cactus and succulent. *Journal of Great Britain*. 42 (2): 55 - 56 p.
- Pimienta-Barrios, E. 1999. El pitayo en Jalisco y especies a fines en México. Universidad de Guadalajara. Fundación Produce Jalisco, A. C. Primera edición. 17-115 p.
- Preeces, J. E. y Sutter, E. G. 1991. Acclimatization of micropropagated plants to the green house and field. En micropropagation. Kluwer Academic Publisher. Dordrecht.
- Ramírez C., E. 2008. Germinación *in Vitro* de dos especies de cactáceas de los géneros *Mammillaria* y *Turbincarpus*, en estatus de riesgo. Tesis de Licenciatura. U. A. A. A. N. Saltillo, Coahuila, México. 60 p.
- Reyes, R. P. de M. 1993. Latencia de semillas: mecanismos de control y métodos de rompimiento. U. A. A. A. N. Saltillo, Coahuila, México. 137 p.
- Roberts, A. and D. Matthews. 1995. The Preparation *in Vitro* of *Chrysanthemum* for Transplantation to Soil. *Plant Cell Tissue Culture and Organ Culture*. 40: 191-193 p.
- Rodríguez, G. L. y R. R. Apezteguia. 1985. Cactus y otras suculentas en Cuba. Ed. Científico-Técnica. La Habana. 31 p.

- Rodríguez, M. M. S. 2006. Evaluación de la respuesta germinativa e inducción a brote en un medio *in Vitro*, de las especies *Mammillaria candida* Scheidw, *M. coahuilenses* (Boedeker) Moran y *M. densispina* (Coulter) Berger, de Coahuila, México. Tesis de Licenciatura. Saltillo, Coahuila, México. 85 p.
- Rodríguez-Garay, B. y A. Rubluo. 1992. *In vitro* Morphogenetic Responses of the Endagered Cactus *Aztekium ritteri* (Boedeker). Cact. and Succ. J. 64 (3): 116-119.
- Rojas-Aréchiga, M. y Vazquez-Yañes C. 2000. Cactus seed germination: a review. Journal of Arid Environments. 44: 85-104 p.
- Salisbury B., F., 1994. Fisiología Vegetal. Ed. Iberoamérica S.A. DE C.V. México, D.F. 170 p.
- Saltillo. Disponible en:
<http://www.inifap.gob.mx/logros/noviembre/Cactaceas.PDF>
- Sanchez, R. M. D. 1998. Conteo cromosómico y estudio de la semilla de *Turbinicarpus valdezianus* (Moeller) GI & F. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 56 p.
- SAS Institute. 1988. SAS/ETS User's Guide Versión 6 Edition. SAS Institute Inc., Box 8 000, Cary, N. C. 27512.
- Sevilla, M., R, Burris, N. Gunapala y C. Kennedy. 2001. Comparison of benefit to sugarcane plant growth and 15N incorporation following inoculation of sterile plants with *Acetobacter diazotrophicus* type and Nif-mutant strains. Molecular Plant Microbe Interactions. 14(3): 358-366 p.
- Silvertown, J. 1999. Seed ecology, dormancy, and germination: a modern synthesis from Baskin and Baskin. American Journal of Botany. 83 (6): 903-905 p.

- Sotolongo, R. 2000. Micropropagación de *Phidium macromeris* (HBK) Berg. Tesis de Doctorado en Ciencias Forestales. Pinar del Rubio, Cuba. 87 p.
- Starling R., J., 1985. *In Vitro* Propagation of *Leuchtenbergia principis*. Cact. And succ. J. 57: 114-115 p.
- Texeira J. B., J. Lemos I. y M. Coelhe C. 1995. Micropropagacao de especies lenhosas da mata atlántica. En: Congreso Brasileiro de Fisiologia Vegetal. 5 (Ed) Lauras Anais. 18 (2): 185 – 191 p.
- Torres B., C., 1996. El proceso de adaptación de las plantas micropropagadas a condiciones de invernadero. Memoria. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Tesis de Licenciatura. Saltillo, Coahuila, México. 17-20 p.
- Trejo, L. & M. Garza. 1993. Efecto del tiempo de almacenamiento en la germinación de semillas de *Mammillaria heyderi* Muchl. en 4 sustratos. BIOTAM 5 (3): 19-24.
- Trinidad G., R., 2005. Multiplicación *in vitro* de *Astrophytum myrosthigma* Lem. y *Turbincarpus knutianus* Boed. y Aclimatación de estas especies y *T. lophophoroides* Werd. Tesis de Licenciatura. U. A. A. A. N. Saltillo, Coahuila. 85 p.
- UPV. 2003. Universidad Politécnica de Valencia. Parte III. Tema 14: Fitorreguladores. Disponible en: www.etsmre.upv.es/varios/biologia/Temaa/tema_14.htm. (Octubre 2008).
- Velázquez E., L. E. y R. Soltero Q. 2001. Micropropagación de *Ephithelantha micromeris* Engelm. Weber ex Britton et Rose. XLVI (3): 56 -62 p.
- Velazquez T., N. E. 2004. Efecto de la escarificación y aplicación de ácido giberélico en la respuesta germinativa de *Astrophytum myrosthigma* (Bonete de Obispo). Tesis de Licenciatura. Saltillo, Coahuila, México. 83 p.

- Vidalic, S. 1992. Tissue cultura applied to ornamental species. Rome. 134 - 146 p.
- Vilches, J., E. Ramírez, M. Villasmil y M. Molina. 2007. Aclimatización de vitroplantas de sábila (*Aloe vera* (L) Burm. f): efectos del sustrato. Rev. Fav. Agron. (LUZ). Sipl. 24 (1): 57-61 p.
- Villavicencio G., E. E., 1998. Cultivo *in vitro* de dos Especies de Cactáceas (*Astrophytum myriostigma* Lem. y *A. capricorne* (Diertr.) Britton y Rose) Amenazadas de Extinción. Tesis de Maestría en Ciencias Especialidad de Forestal. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. De México. 115 p.
- Villavicencio G., E. E., 2002. Micropropagación de Cactáceas Ornamentales Amenazadas o en Peligro de Extinción. INIFAP. Campo Experimental. 93 p.
- Villavicencio G., E. E.; A. Cano P. y A. Juárez S. 2009. Micropropagación producción de plantas del bonete o birrete de obispo, cactácea ornamental amenazada de extinción del desierto Chihuahuense. Campo Experimental Saltillo. INIFAP-CIRNE. Folleto Técnico Núm 39. ISBN 978-607-425-130-2 Coahuila, México. 42 p.
- Villavicencio, G. E. E., A. P. Cano., H. I. L. Almeida., M. A. G. Arellano y A. S. Juárez. 2006a. producción comercial del bonete o birrete de obispo, cactácea ornamental de Coahuila. INIFAP-CIRNE. Campo Experimental Saltillo. Folleto de Productores. Núm. 12. Coahuila, México. 8 p.
- Villavicencio, G. E. E., Ángel V. M. y M. Cristina L. P. 2000. Germinación y Multiplicación *in vitro* de *Astrophytum myriostigma* Lem. XVIII congreso Nacional. Memoria de la Sociedad Mexicana de Fitogenética. Universidad de Guanajuato. Irapuato, Guanajuato. 83 p.
- Vovides A., P., 1981. Lista Preliminar de Plantas Mexicanas Raras o en Peligro de Extinción. Instituto Nacional de Investigación Sobre Recursos Bióticos, (INIREB). Biótica 6 (2): 219 - 228 p.

- Vyskot B. and Z. Jara. 1984. Clonal propagation of cacti through axillary buds *in vitro*. J. Hort. Sci. 59(3): 449-452.
- Wereing, R. F and Phillips L. D. 1973. The control of growth and differentiation in plants, pergamon press; L. T. D. Gran Bretaña. 92 p.
- Yang, J. et al. 1999. Seed germination patterns in green dragon *Arisaema dracontium*. American Journal of Botany. Vol. 86 (8). 1160-1167 p.
- Yassen-Mohamed, Y., S. A. Barringer, W. E. Splittstoesser, and R. J. Schnell. 1995a. Rapid Propagation of Tuna (*Opuntia ficus indica*) and Plant Establishment in Soil. Plant Cell Tissue and Organ Culture. 42: 117-119.
- Yassen-Mohamed, Y., S. A. Barringer, W. E. Splittstoesser. 1995b. Micropropagation of the Endangered Succulent, *Stapelia semota*, by axillary Proliferation. Cact. and Succ. J. (67): 366-368.

7. APENDICE

Cuadro 7. Significancia de las variables Número (NB) y Altura (AB) de brotes de *T. knuthianus* en la etapa de multiplicación en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del CESAL.

F.V.	g.l.	Número de Brotes	Altura de Brotes
Fitohormona (F)	1	*	**
Concentración (C)	5	**	**
FxC	4	**	NS
FxCxR	25	**	**
Error		5173	4863
r^2		0.53	0.29
CV		23.61	21.12
Media		4.43	5.40

F.V. = fuente de variación; g.l.= grados de libertad; NS= No significativo; * = significativo ($\alpha \leq 0.05$), ** = altamente significativo ($\alpha \leq 0.01$); R= Repetición.

Cuadro 8. Influencia de las fitohormonas en el Número (NB) y Altura (AB) de brotes de *T. knuthianus* en el laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del CESAL.

Fitohormona	Número de Brotes	Altura (mm)
Kin	5.87 a	5.91 b
BA	3.87 b	5.18 b
Sin Fitohormona	2.33 c	8.22 a
CME	3.74	4.93
DMS	1.23	1.42
r^2	0.71	0.65
CV	23.61	21.12
Media	4.43	5.40

Kin = Cinetina; BA = Bencilaminopurina; CME= Cuadrado medio del error; DMS= Diferencia mínima significativa; CV= Coeficiente de variación. Valores con la misma letra dentro de las columnas no difieren significativamente (Tukey $P \leq 0.05$).

Cuadro 10. Significancia de las variables Número (NB) y Altura (AB) de brotes de *T. valdezianus* en la etapa de multiplicación laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del CESAL.

F.V.	g.l.	Número de Brotes	Altura de Brotes
Fitohormona (F)	0	-	-
Concentración (C)	0	-	-
FxC	0	-	-
FxCxR	2	NS	NS
Error		1993	1993
r ²		0.14	0.28
CV		16.21	15.82
Media		9.36	6.72

F.V. = fuente de variación; g.l.= grados de libertad; NS= No significativo; * = significativo ($\alpha \leq 0.05$), ** = altamente significativo ($\alpha \leq 0.01$); R= Repetición.

Cuadro 11. Influencia de las fitohormonas en el Número (NB) y Altura (AB) de brotes de *T. valdezianus* en el laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del CESAL.

Fitohormona	Número de Brotes	Altura (mm)
Kin	9.41 a	6.29 b
BA	9.32 a	7.17 a
CME	11.5	5.8
DMS	0.29	0.21
r ²	0.14	0.28
CV	26.21	25.82
Media	9.36	6.72

Kin = Cinetina; BA = Bencilaminopurina; CME= Cuadrado medio del error; DMS= Diferencia mínima significativa; CV= Coeficiente de variación. Valores con la misma letra dentro de las columnas no difieren significativamente (Tukey $P \leq 0.05$).

ABREVIATURAS

BA	N6 – Bencilaminopurina
Kin	Kinetina; N6 – Furfurilaminopurina
AIA	Ácido Indol – 3 – acético
AIB	Ácido Indolbutírico
MS	Medio de Cultivo Murashige y Skoog (1962)
SEMARNAT	Secretaria de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca
MBG	Medio Base de Germinación
MIB	Medio de Inducción de Brotes
PG	Porcentaje de Germinación
VG	Velocidad de Germinación
NB	Número de Brotes
AB	Altura de Brotes
mM	Milimol
μM	Micromol
cm	Centímetros