



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

ÁREA ACADÉMICA DE BIOLOGÍA

LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

EFFECTO DEL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO EN
LA VIABILIDAD *in vitro* EN LAS SEMILLAS DE
Ferocactus latispinus (Haw.) Britton *et* Rose
(CACTACEAE)

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
L I C E N C I A D O E N B I O L O G Í A
P R E S E N T A:
J O S É R O B E R T O H E R N Á N D E Z H E R N Á N D E Z

DIRECTOR: DRA. ANA LAURA LÓPEZ ESCAMILLA



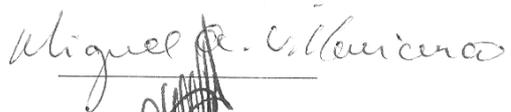
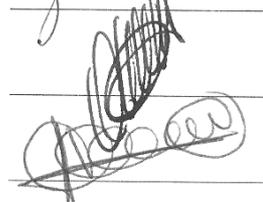
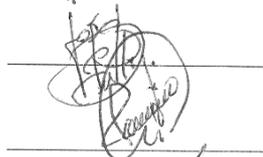
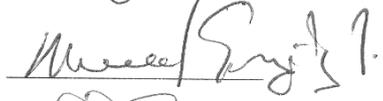
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
ÁREA ACADÉMICA DE BIOLOGÍA
COORDINACIÓN DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGIA

M. EN C. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO
DIRECTOR DE CONTROL ESCOLAR, UAEH

P R E S E N T E

Por este conducto le comunico que el Jurado asignado al pasante de Licenciatura en Biología **José Roberto Hernández Hernández** quien presenta el trabajo recepcional de tesis titulado “Efecto del tiempo de almacenamiento en la viabilidad *in vitro* en las semillas de *Ferocactus latispinus* (Haw.) Britton *et* Rose (Cactaceae)”, después de revisarlo en reunión de sinodales ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación se anotan las firmas de conformidad de los integrantes del Jurado:

PRESIDENTE:	M. en C. Miguel Ángel Villavicencio Nieto	
PRIMER VOCAL:	Dr. Otilio Arturo Acevedo Sandoval	
SEGUNDO VOCAL:	Dra. Claudia Elizabeth Moreno Ortega	
TERCER VOCAL:	Dra. Ana Laura López Escamilla	
SECRETARIO:	M. en C. Leticia Romero Bautista	
PRIMER SUPLENTE:	M. en C. Manuel González Ledesma	
SEGUNDO SUPLENTE:	Dra. Maritza López Herrera	

Sin otro particular, reitero a usted la seguridad de mi atenta consideración.

A T E N T A M E N T E
“AMOR, ORDEN Y PROGRESO”
Mineral de la Reforma, Hidalgo a 13 de octubre de 2008


Biol. Ulises Iturbe Acosta
Coordinador Adjunto de la Licenciatura en Biología



**LA PRESENTE INVESTIGACIÓN SE REALIZÓ EN EL
LABORATORIO DE MORFOFISIOLOGÍA VEGETAL DEL
CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS DE LA
UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE HIDALGO, BAJO
LA DIRECCIÓN DE LA DRA. ANA LAURA LÓPEZ ESCAMILLA.**

Agradecimientos institucionales

Agradezco a la misma Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo por darme la oportunidad de realizar mis estudios así como el presente trabajo.

A la Dra. Ana Laura López Escamilla por orquestar esta labor, desarrollar en mí esa conciencia sobre las cactáceas, así como por darme la oportunidad y creer en mí para la elaboración de esta tesis. Muchas gracias...

A la Dra. Maritza López Herrera al despejar aquellas dudas durante la elaboración del trabajo, así como por el apoyo y comprensión que no nego nunca. ¡Gracias!

Al Maestro Mario Segura, quien me apoyó con el material fotográfico vertido aquí sobre la germinación de las semillas.

A los investigadores: Dra. Maritza López, Dra. Claudia Moreno, M en C. Miguel Ángel Villavicencio, M en C. Manuel González Ledesma, Dr. Otilio Sandoval, y a la M en C. Leticia Romero Bautista por su revisión y aportaciones a éste trabajo.

Al Dr. Juan Márquez Luna por su apoyo y consejos en el transcurso de la carrera. Muchas gracias.

Agradecimientos personales

Debo agradecer a mis padres Roberto y Caritina por ser los principales pilares durante mi estancia en la universidad, por gran y constante apoyo fluido a pesar de todo, por su paciencia, amor, consejos, cariño que siempre han vertido en mí. ¡¡¡Muchas... pero muchas gracias!!!

A mis Hermanos Hedda, Christian y Giovanni!!! Que siempre me motivaron en este sendero de la vida, por acompañarme en buenos y malos momentos, por ser unos buenos hermanos, aunque en ciertos momentos yo no lo era. Gracias!!! Ah!! Tampoco me olvido de ustedes Chuy, Juan, Cristal, Pete, Alex, Yayis y Mauricio, échenle muchas ganas! Agradezco a todos mis tíos (principalmente a Celestina y Federico) al darme apoyo y alegrías a pesar de su distancia, se les quiere y aprecia. También dedico este trabajo a ti mi viejita Lucy, que aunque ya no estas con nosotros siempre estarás hasta en el vaso más pequeño de nuestros corazones!!

Agradezco a mis amigos y/o hermanos de laboratorio como Miriam por su amistad, consejos, instrucción, alegrías y por todas cosas que no se me vienen a la mente, Gracias ☺. A mi compañera de batallas Claudia, a Su-Lin ("pastel") y Nelly por acompañarme, animarme, ayudarme, comprenderme y hacerme ver las cosas de diferente manera. Thank's!! También agradezco a Camelia, Irma, Marisol, Brenda, Ángeles y Gil por su apoyo y amistad.

A mi compadre Alex ("Compaye") por escucharme cuando lo necesitaba, por su comprensión y ayuda, así como por esos grandes consejos y buenos chistes de la vida, por esa amistad ilimitada, hasta por esas giras al centro. Salud Compadre!!

A ti Cynthia por aparecer de pronto en mi vida y brindarme ese gran amor sin condiciones. Te quiero mucho niña!!

A mis compañeros de la carrera "los chemos" Julio e Isaí, pues esos buenos momentos de relajo y presión no se olvidan. A mis cuates Erik y Paco, que también se les aprecia.

A la misma vida, pues el solo el solo hecho de vivir es la madre suprema de todas las disciplinas (José Saramago).

Índice:

	RESUMEN	3
I.	INTRODUCCIÓN	4
II.	ANTECEDENTES	6
1.	Generalidades de <i>Ferocactus</i>	6
2.	Semilla	7
2.1	Germinación	8
2.2	Factores que afectan a la germinación	10
3.	Latencia	12
3.1	Inhibidores naturales	13
4.	Semillas de cactáceas	14
4.1	La semilla como unidad de dispersión	20
4.2	Bancos de semillas en el suelo	21
4.3	Banco de semillas aéreo	22
5.	Pruebas de viabilidad	23
6.	Germinación de semillas cactáceas en condiciones <i>ex vitro</i>	24
7.	Germinación de semillas de cactáceas en condiciones <i>in vitro</i>	29
III.	JUSTIFICACIÓN	31
IV.	OBJETIVOS	32
1.	Objetivo general	32
1.1	Objetivo particular	32
2	Hipótesis	32
V.	MATERIAL Y MÉTODO	33
1.	Colecta de semillas	33
2.	Desinfección de las semillas	33
3.	Germinación <i>in vitro</i>	33
4.	Obtención de curvas de germinación <i>in vitro</i>	34
VI.	RESULTADOS	35
1.	Porcentaje de germinación final y tiempo de almacenamiento	35
2.	Curvas de germinación <i>in vitro</i>	37
2.1	Lote 2007	37
2.2	Lote 2006	38
2.3	Lote 2005	39
2.4	Lote 2004	40
3.	Análisis estadístico	41
4.	Germinación <i>in vitro</i>	42
	DISCUSIÓN	45
1.	Germinación de otras especies de cactáceas bajo condiciones <i>in vitro</i>	45
2.	Germinación de otras especies de cactáceas bajo condiciones <i>ex vitro</i>	48

3.	Germinación <i>in vitro</i>	50
4.	Velocidad de germinación	51
5.	Condiciones ambientales de la planta madre como posibles moduladores en el porcentaje de germinación o viabilidad de semillas.	52
VII.	CONCLUSIONES	60
VIII.	Bibliografía	62
Anexo I	Descripción botánica de <i>Ferocactus latspinus</i> (Haworth) Britton et Rose, Cactaceae.	70
Anexo II	Formulación del Medio de Cultivo	72

Resumen

La semilla es un óvulo fecundado maduro que desempeña funciones como: reproducción, dispersión, expansión a nuevos territorios y la sobrevivencia de germoplasma en condiciones ambientales desfavorables. Para ello, la semilla debe conservar su capacidad germinativa (viabilidad). De tal manera una semilla será aquella que puede germinar bajo condiciones favorables, a condición de que si la latencia este presente, sea removida. El presente trabajo determinó la viabilidad *in vitro*, el proceso y velocidad de germinación de semillas de *Ferocactus latispinus* almacenadas durante diferentes tiempos, en. Se realizaron colectas en Diciembre del 2004, Febrero del 2005, Febrero del 2006 y Mayo 2007 en la comunidad de el Nopalillo, Epazoyucan, Hidalgo, se desinfectaron y cultivaron bajo condiciones asépticas en medio MS al 50% (macronutrientes, micronutrientes y sacarosa) más 1 g/L de carbón activado y 10 g/L de agar; de cada año de colecta se sembraron 30 semillas con tres repeticiones (90 semillas) por cada mes de evaluación. Para determinar la disminución de viabilidad, las siembras se realizaron durante cinco meses consecutivos para las semillas colectadas en el 2007; para los lotes 2004 y 2005 sólo se realizaron tres siembras en diferentes fechas. Para el lote 2006 se realizaron cuatro siembras en distintas fechas. Se registró el porcentaje de germinación final, obteniendo una curva de germinación promedio por cada mes de evaluación. Los porcentajes de germinación final se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA), y a una prueba de Tukey ($P < 0.05$) para comprobar si hubo diferencias significativas dentro las siembras de cada lote y entre los lotes. De forma general la germinación inicia entre el cuarto y quinto día para los lotes 2007 y 2005, cuyos porcentajes de germinación promedio fueron los mas altos de 91.67% y 64.07%. Sin embargo se encontraron diferencias significativas entre ambos ($P = 0.001$). En los lotes 2006 y 2004 la germinación inicia entre los días sexto y noveno, alcanzan un porcentaje de germinación promedio de 42.03% y 44.4%. Entre ambos no hay diferencias significativas. Dentro de las siembras de cada lote solo se encontraron diferencias significativas en el año 2004 ($P = 0.008$), donde en la primera y segunda siembra no existen diferencias significativas.

I.- Introducción

La Familia Cactaceae es endémica de América; y se distribuye desde Peace River, en el Norte de Canadá, a 59° de latitud Norte, hasta la Patagonia, Argentina, a 52° de latitud Sur y desde el nivel del mar en las dunas costeras, hasta los 5100 m de altitud en Perú (Bravo-Hollis y Scheinvar, 1999). Su condición está amenazada, ya sea por algunas actividades humanas que afectan a las poblaciones de las plantas, como la colecta excesiva de organismos y semillas, así como, la ganadería y la agricultura (Álvarez *et al.*, 2004).

México cuenta con un total de 48 géneros y 563 especies, del total de géneros que existen en el país, 15 (31.3%) están restringidos a sus límites territoriales (endémicos) y 20 más son casi endémicos (Hunt, 1992 en Hernández y Godínez, 1994), además de México, se hallan otros países con altos porcentajes de endemismo a nivel especie, tal es el caso de: Chile (74.5%), Brasil (73.2%), Perú (54.8%), Argentina (53.4%), Bolivia (50.8%), y Estados Unidos de América con un 28% (Hernández y Godínez, 1994).

Dentro de la Norma Oficial Mexicana (SEMARNAT, 2001) se incluyen 285 especies de cactáceas en diferentes categorías: 30 en peligro de extinción (P), 89 amenazadas (A) y 166 sujetas a protección especial (Pr).

La reproducción por semillas es un proceso difícil, para que una semilla germine y las plántulas lleguen a organismos adultos, sufren grandes vicisitudes, ya que algunas son destruidas por agentes físicos o por animales que se alimentan de ellas. La germinación de las semillas es insegura; sólo germinan aquellas que son protegidas del medio adverso, ejemplo de ello son las semillas que están resguardadas por grietas en el suelo, que guardan humedad, así como, la sombra de los arbustos del desierto, que proporcionan un microclima protector. Cuando tales condiciones no se reúnen, las plántulas mueren; al predominar tales condiciones año tras año las especies pueden llegar a desaparecer (Bravo-Hollis, 1978).

Ante tal panorama se han desarrollado técnicas como el cultivo de tejidos vegetales (CTV) y la micropropagación, que es una aplicación de la primera; el

CTV refiere a la habilidad de establecer y mantener órganos de plantas (embriones, brotes, raíces y flores) y tejidos de plantas (células, callos y protoplastos) en condiciones asépticas. La micropropagación puede considerarse como una forma acelerada de propagación clonal; dentro de esta, pueden utilizarse semillas como una fuente de explantes (Hartmann *et al.*, 2002). Cuando la germinación de semillas se realiza en condiciones *in vitro*, en algunos casos los requerimientos y factores implicados aumentan considerablemente, así, factores como pH, hidratos de carbono, sales minerales, vitaminas y gelificantes del medio de cultivo son importantes, siendo los reguladores de crecimiento, los que permiten controlar (inhibir/inducir) la germinación de las semillas, por ejemplo el ácido giberélico se utiliza para eliminar la latencia o dormancia y el ácido abscísico para inducirla (López y González, 2008).

La germinación de semillas en algunas especies puede ser incrementada por el uso de técnicas *in vitro*, aunque no siempre es así, debido a que algunas semillas entran en estados de latencia o requieren de condiciones específicas para germinar (Fay, 1994). El entender la biología de la germinación en condiciones *in vitro* podría ayudar a mejorar el aprovechamiento de las semillas para la propagación de cactáceas que son plantas amenazadas y de amplia utilidad (medicinal, alimenticio, mágico-religiosos y ornamentales) auxiliando en su conservación.

II. -Antecedentes

1.-Generalidades de *Ferocactus*

El género *Ferocactus* fue creado por Britton y Rose en 1922 en su enciclopedia "The Cactaceae" dentro del volumen III, separando varias especies del género que en aquel entonces era *Echinocactus* "Biznagas verdaderas" (Eguiarte, 2006).

Para el género *Ferocactus* se reconocen entre 25 y 30 especies. Esta característica del Norte de México y suroeste de Estados Unidos, para este último el estado con más especies es Arizona con tres, mientras en México los estados con más especies son Puebla, Baja California Norte y Sur, así como San Luis Potosí, cada uno con siete especies, aunque las islas de Baja California, tienen ellas solas siete especies. Existen varios estados del sur y centro sin registros: Quintana Roo, Yucatán, Chiapas, Campeche, Guerrero y Tlaxcala. La Mayor parte de las especies crecen entre el nivel del mar y 1000 msnm pero hay registros hasta 2500 en Hidalgo y Puebla (Pilbeam y Bowdery, 2005 citado por Eguiarte, 2006). El género *Ferocactus* se encuentra frecuentemente anunciado para su venta en internet llegando tener costos elevados principalmente en sus semillas (aproximadamente de 60 pesos por quince semillas y 240 pesos por cien semillas) También se incluyen 10 especies del género *Ferocactus* dentro de las categorías: amenazada y sujeta a protección especial (SEMARNAT, 2001).

Barcenas (2003) menciona que *Ferocactus* posee 29 especies de las cuales cinco (17.2%) son vendidas en los mercados y comercios internacionales. Además es uno de los géneros que se ofrecen frecuentemente en el mercado mexicano para su venta junto con: *Mammillaria* y *Turbincarpus* representando el 53 por ciento de los taxones identificados. Las especies del género poseen cierta utilidad pues se emplean en la medicina tradicional, elaboración de dulces, como forraje y como fuente de agua para animales domésticos; los botones florales y frutos son consumidos por grupos indígenas (Maiti *et al*, 2003, citado por Shishkova *et al.*, 2006).

De forma general *Ferocactus latispinus* (Anexo I) es una especie de tallo globoso, con al menos 30 cm de altura, posee de 12 a 15 espinas radiales y cuatro espinas centrales, de las cuales tres son ascendentes y una inferior más ancha con la

punta curva. Las flores presentan dos coloraciones: amarillas o purpúreas. Las semillas son reniformes, de 1.5 mm de longitud y 1mm de diámetro; con la testa de color castaño oscuro. La especie se distribuye en los estados del altiplano: Aguascalientes, Distrito Federal, Guanajuato, Hidalgo, México, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí y Zacatecas (Bravo-Hollis y Sánchez- Mejorada, 1991). Su importancia radica en que sus frutos son comestibles y su uso potencial ornamental debido a su frecuencia de anuncios para su venta en internet (Benítez y Dávila, 2002).

Del Castillo (1982) menciona que en *Ferocactus histrix* la dispersión de las semillas puede ser llevada principalmente por hormigas (incluso sugiere un mutualismo con estas) y aves; como gorrión (*Carpodacus mexicanus*), calandria (*Cardinalis cardinalis*) y cuervo (*Corvus* sp.). Quizá estos mismos vectores participen en la dispersión de semillas en *F. latispinus*.

En cuanto a la fenología parece que esta dependerá tanto de la especie, aunque también se menciona que el periodo de fructificación cambia en diferentes localidades, como consecuencia de variaciones en la disponibilidad de recursos para la reproducción (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997). En tanto que Del castillo (1982) menciona que el proceso reproductivo esta determinado por el contenido hídrico de la planta, aunque también habla, que la temperatura y el fotoperiodo son los factores ambientales más importantes en la inducción de la reproducción en *F. histrix*. Donde su floración inicia a principios de febrero y termina a mediados de junio (duración cerca de 20 semanas), mientras que la fructificación se presenta desde comienzo del mes de marzo hasta principios de julio. McIntosh, (2002) encuentra que el periodo floración de *Ferocactus cylindraceus* comienza en Mayo y continua hasta inicios o a mitad de Octubre, y en *F. wislizeni* inicia en Julio y también continua a inicios o a mitad de Octubre. Probablemente el periodo de floración en *F. latispinus* comienza en Mayo y cierra en Octubre.

2.-Semilla

La semilla es el órgano reproductivo principal de plantas superiores terrestres y acuáticas, es decir, es un óvulo fecundado, independiente de la planta madre, que ha madurado hasta alcanzar la diferenciación y capacidad fisiológica para originar una nueva planta. Ésta, es producida por plantas angiospermas y gimnospermas. Por lo general una semilla consta de un embrión, tejidos nutritivos y cubiertas protectoras.

La semilla desempeña una función fundamental en la renovación, persistencia y dispersión de las poblaciones de plantas, la regeneración de los bosques y la sucesión ecológica. En concreto la semilla desempeña cuatro funciones fundamentales: la reproducción, la diseminación dentro de la comunidad, la expansión hacia nuevos territorios o hacia otro hábitat, y por último la sobrevivencia de germoplasma en condiciones meteorológicas o ambientales desfavorables para el crecimiento. En la naturaleza la semilla sirve como fuente de alimento básico para muchos animales. También, mediante la producción agrícola, la semilla es esencial para el ser humano, cuyo alimento principal está constituido por semillas, directa o indirectamente, que sirven también de alimento para varios animales domésticos (Camacho, 1994; Vázquez- Yanes *et al.*, 1997).

Para que una semilla pueda establecerse debe de ser viable, es decir, conservar su capacidad germinativa y generar una plántula normal. El período de viabilidad suele ser variable y depende del tipo de semilla.

2.1-Germinación

Se puede definir como la recuperación de la actividad biológica por parte de la semilla, y comienza con la absorción del agua (imbibición) y culmina con el comienzo de la elongación de la radícula (Bewley y Black, 1985). Éste proceso se da en tres etapas sucesivas: (1) absorción de agua por imbibición, provocando el hinchamiento y ruptura de la testa; donde, la membrana y el sistema de organelos se organizan y la respiración se inicia para liberar energía de las reservas almacenadas para una necesidad futura; (2) inicio de la actividad enzimática, y del metabolismo respiratorio, translocación y asimilación de las reservas alimentarias

en las regiones en crecimiento del embrión; las reservas, que son moléculas complejas se rompen a través de la hidrólisis en constituyentes pequeños, liberando energía, y proporcionan bloques de construcción para usarse en un nuevo crecimiento, además contribuyen al incremento del potencial osmótico dentro de las células; la posterior absorción de agua servirá de gatillo para expandir o comprimir al embrión y (3) el crecimiento y la división celular que provoca la emergencia de la radícula y posteriormente de la plúmula (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997; Kolotelo *et al.*, 2001) (Figura. 1).

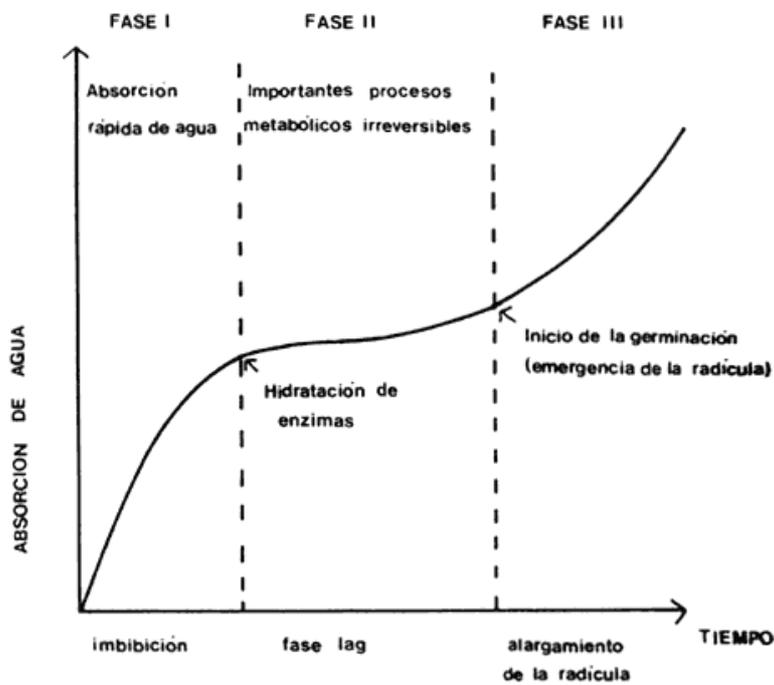


Figura 1. Fases de la germinación (Tomado de Vázquez-Yanes *et al.*, 1997)

2.2-Factores que afectan a la germinación

Humedad: el agua es la llave de la imbibición, activación de la maquinaria metabólica, y la emergencia de la radícula. El potencial hídrico es medido como libre o fácilmente extraíble como lo es el agua. El potencial se mide en unidades de presión (mega pascales). El agua pura ha sido definida con un potencial hídrico de cero (0.00 MPa), haciéndola fácil de extraer u obtener. Al añadir solutos el potencial hídrico disminuye de cero, haciendo el agua menos libre o más difícil de extraer. En resumen, las semillas son como esponjas, compitiendo por agua contra los solutos en el agua. Si en estos existen muchas partículas de solutos presentes, las semillas son incapaces de competir y obtener suficiente agua con la cual puede comenzar o continuar el proceso de germinación (Kolotelo *et al.*, 2001).

Oxígeno. La disponibilidad de oxígeno es importante debido a que es necesario en el proceso de respiración, que provee la energía requerida para mantener el proceso metabólico de las semillas durante la estratificación o germinación. Un buen intercambio de gases entre el medio de germinación y el embrión es esencial. Si la concentración de oxígeno cae substancialmente por debajo de 21% (concentración de O₂ en el ambiente), la germinación es inhibida. El exceso de humedad dificulta el intercambio de gas entre una semilla y el ambiente externo con un posible impacto negativo sobre la tasa de respiración. La difusión de la tasa de oxígeno es 10, 000 veces mas rápido en el aire que en el agua (Kolotelo *et al.*, 2001).

Temperatura. Generalmente tiene efecto en la capacidad germinativa o en la velocidad de germinación. Claro que, las semillas de diferentes especies germinan bajo diferentes rangos de temperatura a excepción de temperaturas extremas. La sensibilidad de las especies difiere y no necesariamente cumplen la regla de que a una mayor temperatura concierne un incremento en la germinación. Este es un

proceso complejo formado por varias etapas; un cambio en la temperatura afectará cada uno de estos pasos o etapas.

Las semillas de cada especie pueden germinar dentro de un rango de temperaturas; sin embargo existe un punto óptimo, arriba o por debajo del cual la germinación también se lleva a cabo pero más lentamente. Así, la temperatura óptima es aquella bajo la cual se obtiene el porcentaje más alto de germinación en el menor tiempo. Las temperaturas máximas y mínimas de germinación son las temperaturas más altas y más bajas en las cuales todavía se produce germinación (Moreno, 1996)

Luz. Existe una gran variedad de respuestas de las semillas a la germinación con respecto a la luz. Entre las plantas cultivadas se ha visto que no requieren luz para germinar, ya que son indiferentes a la luz o la oscuridad. En cambio, muchas semillas silvestres tienen comportamientos diferenciales con respecto a la luz. Existen aquellas que sólo germinan en la oscuridad, bajo la luz continua, y otras que necesitan de un periodo de iluminación corto para germinar, así como las que son indiferentes a la presencia de luz u oscuridad.

Ecológicamente la luz es un factor de gran importancia. Determina la posición en el suelo donde va a germinar una semilla; controla la germinación bajo el dosel de las ramas de los árboles, y al interactuar con la temperatura participa en el control estacional del rompimiento de la latencia (Moreno, 1996)

Éste factor promueve la fotoinducción o fotoinhibición de la germinación; se desconoce el número de especies con fotoblastismo (germinación regulada por luz).

Para esto tres bandas principales de espectro lumínico son la que actúan y afectan a la germinación. Estas corresponden a la franja de los 660 nanómetros (rojo), 730 nanómetros (rojo lejano) y la luz que se encuentra entre los 400 y 500 nanómetros (azul). El rojo y el rojo lejano son absorbidos por el fitocromo, que es una cromoproteína que actúa como sensor. Bajo su forma activa se induce a la germinación e interviene en el proceso de la impermeabilidad, activación de enzimas y expresión genética. La conversión del fitocromo inactivo (Pr) a

fotocromo activo (Prf) se lleva a cabo bajo la luz roja, y la reacción contraria, bajo el rojo lejano. Tales formas corresponden a cada uno de los picos de absorción.

La intensidad de la luz, fotoperiodo y la cantidad de rojo en relación con el rojo lejano presente (denominada relación R: RL) modulan las respuestas de las semillas a la luz para iniciar el proceso.

Bajo el dosel la luz es rica en RL, mientras que en lugares abiertos ambas longitudes de onda llegan con igual proporción. En semillas pequeñas la conversión del fitocromo se realiza a bajas intensidades de luz. Aunque la temperatura y el fotoperiodo afectan en el resultado final del proceso expresado en el porcentaje y velocidad de germinación (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997).

3.-Latencia

En algunos casos la semilla tiende a reposar aún cuando las condiciones son óptimas para que ocurra la germinación, es decir, las actividades fisiológicas cesan, aplazando el crecimiento y desarrollo, reduciendo en gran manera la respiración. En plantas superiores pueden presentar latencia o interrupción del crecimiento del tejido meristemático (tanto yemas de crecimiento que originan a ramas así como en semillas); la latencia puede estar regulada por factores hereditarios determinando mecanismos fisiológicos endógenos de la planta que a su vez interactúan con los factores ambientales, en los que la planta tiende a desarrollarse, originando cambios evolutivos en las plantas; tales factores podrían ser: humedad, temperatura, calidad del espectro lumínico y el termoperiodo. Otro de los factores que influyen en la latencia son las condiciones hormonales y nutricionales de la planta madre, arrojando diferenciaciones entre cosechas de semillas dependiendo la época y el lugar de producción (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997; Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000).

Existen tres tipos de dormancia: innata o endógena, inducida o secundaria y forzada, impuesta o exógena. La dormancia innata previene la germinación de las semilla mientras estas sean sujetas a la planta madre, posiblemente se debe a la inmadurez del embrión (embriones diferenciados pero no desarrollados por completo), a la presencia de inhibidores químicos como es ácido abscísico (ABA)

que ha sido encontrado tanto en cubiertas seminales y el endospermo; o causado por cubiertas de la semilla impermeables, o las semillas requieren de factores ambientales particulares.

La latencia inducida ocurre cuando una semilla imbibida, no durmiente y madura no encuentran alguna de las condiciones favorables para germinar, ya sean bajas cantidades de oxígeno, altas temperaturas, luz inhibitoria, entre otros, ocasionando cambios fisiológicos reversibles, también se menciona que las semillas pueden entrar en un estado de latencia secundaria en el que ya no pueden germinar aun estando vivas (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997; Bewley y Black, 1985). Cabe destacar que el término latencia inducida es equivalente a la quiescencia debido a que se detiene el desarrollo de semillas no latentes debido a condiciones ambientales desfavorables (Baskin y Baskin, 2001).

La latencia impuesta o exógena se presenta en semillas aptas para germinar en condiciones adecuadas de humedad y temperatura media, es decir, adecuadas al hábitat que ocupan, pero que continúan latentes por falta de luz, requerimientos especiales de temperatura, oxígeno o de otro factor (cuando son privadas de uno o más requerimientos esenciales para la germinación). Esta latencia está controlada por las condiciones físicas del ambiente que rodea a la semilla (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997).

3.1.- Inhibidores naturales. Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes (2000) citan algunos trabajos donde se ha detectado la presencia de inhibidores naturales en la testa de la semilla en diferentes especies de cactáceas: *Opuntia phaeacantha* var. *discata*, *Stenocactus griseus*, *Opuntia joconocle* entre otras, cuyas semillas necesitan ser lavadas o embebidas antes de ser sembradas para obtener altos porcentajes de germinación. Un inhibidor de la germinación es el ácido abscísico (ABA), tiene una función secundaria en la abscisión o latencia de las yemas, se presenta al iniciar la desecación de las semillas, que es la etapa final del desarrollo del embrión en plantas superiores. Al desaparecer el ABA en semillas maduras y secas, permitirá al embrión germinar, en si, previene la germinación precoz del embrión (manteniendo latente la madurez de este) en desarrollo y esta

implicado en la latencia (Rock y Zeevaart, 2000). También se habla de que el ABA regula la acumulación de proteínas almacenadas durante la embriogénesis. Estructuras como la cubierta de la semilla prevendrán el escape de inhibidores; esta junto con el pericarpo pueden contener concentraciones altas de inhibidores incluyendo el ABA suprimiendo la germinación del embrión. Un ejemplo es que la germinación de semillas en *Carnegieia gigantea* y *Lemaireocereus thurberi* queda inhibida al estar en contacto con la pulpa del fruto (McDonough, 1964). Cabe destacar que otras hormonas contribuyen en la latencia, ya que en algunas plantas el pico de producción de ABA se da cuando hay un decline en los niveles de ácido 3- indolacético (AIA) y ácido giberélico (GA) (Taiz y Zeiger, 2002).

4.-Semillas de cactáceas

De forma general la semilla se produce a partir de un rudimento seminal, en la semilla madura se distinguen las siguientes partes: la testa, que cubre a la semilla y se forma de los tegumentos; el endospermo, que se encuentra en forma abundante o casi nula (producto de la fusión de un núcleo haploide con dos núcleos polares del saco embrionario) y el embrión que no es otra cosa que el producto de la fusión de un gameto masculino (núcleo haploide) del polen con el núcleo del saco embrionario (Oosfera). En la cara externa de las semillas se aprecian otras estructuras como: el micrópilo que persiste como un poro. En el lugar por donde el rudimento se ligaba a su funículo quedando una cicatriz llamada hilo. En los rudimentos anátropos, en los que parte del funículo estaba soldado con los tegumentos, la semilla conserva restos del funículo pegados y forma una costilla muy característica llamada rafe. Después de la fecundación del rudimento puede producirse una excrecencia superficial, en algunas semillas es el arilo; en otros casos, tal excrecencia puede formarse en el funículo llamándose estrofiolo; por el contrario, si crece sobre el micrópilo se nombra carúncula (Fahn, 1974)

Dentro de la familia Cactáceae las semillas suelen ser pequeñas de 1 a 2 mm de longitud, aunque en especies primitivas como *Nyctocereus* las semillas alcanzan

hasta un centímetro de longitud. Las formas de éstas suelen variar, como: globosas, discoides, reniformes, y ovoides; en cuanto a su coloración, se presentan de negro al crema, pasando por tonalidades pardas, castañas o con tintes rojizos (Bravo-Hollis y Scheinvar, 1999).

Las semillas están integradas por el embrión, las cubiertas protectoras, y a veces, restos de sustancias nutritivas (Figura 2). El embrión posee cotiledones grandes o pequeños. Las envolturas de las semillas son dos: una interna (tegmen) muy delgada, y otra externa muy gruesa (testa) que presenta distintas ornamentaciones como verrugas, tubérculos, o poros, éstas formaciones pueden participar en el rol de la dispersión, adhiriéndose o rodando por las superficies o grietas del suelo, donde el viento, las lluvias, o algunos animales (hormigas, roedores, entre otros) los transportan a sitios donde podrán germinar (Bravo-Hollis y Scheinvar, 1999).

Bajo el microscopio electrónico de barrido, la testa muestra estructuras muy complejas que auxilian en la identificación de géneros y especies, también, participa en la absorción de agua durante la germinación. En un lado o en la base de la semilla existe un área llamada hilo (cicatriz que deja el funículo en la semilla al desprenderse), que contiene generalmente el micrópilo (poro por el cual saldrá la radícula en la germinación) y el funículo; y a veces presenta estrofiolo que es que es una estructura esponjosa formada por residuos que deja el funículo al desprenderse en algunas especies (Bravo-Hollis y Scheinvar, 1999).

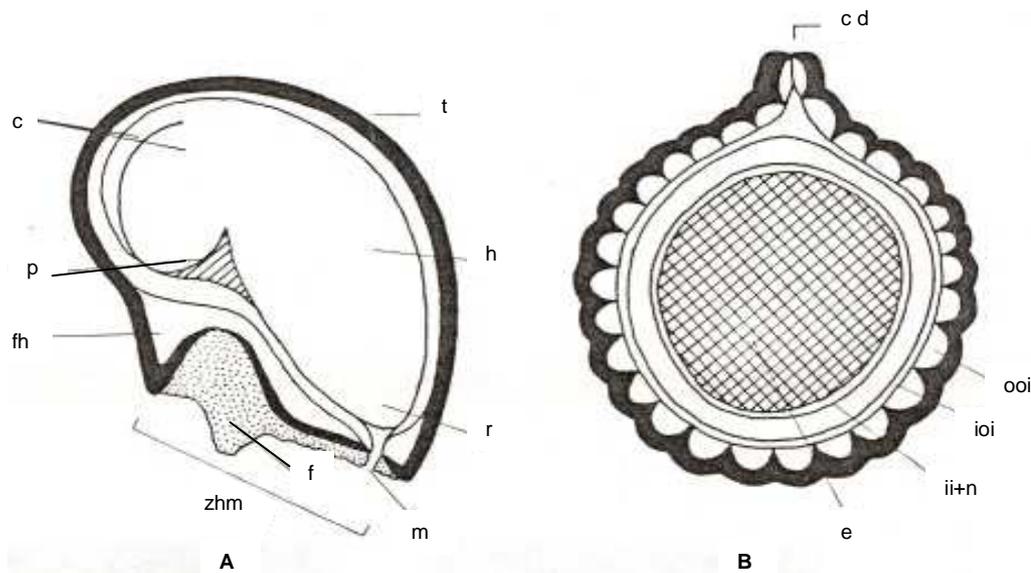


Figura 2. **A**, sección longitudinal y **B** transversal de una variante común de semilla de cactáceas. Abreviaturas: c, cotiledones; c d, cresta dorsal; e, embrión; f, remanente del funículo (hilo); r f, remanente funicular; h, hipocotilo; zhm, zona hilo-micropilo; ii+n, interior del integumento+nucela; ioi, capa interior del integumento externo; m, micropilo; ooi, capa exterior del integumento externo (exotesta); p, perispermo; r, radícula; t, testa. (Tomado de Bregman y Bouman, 1983).

El óvulo en algunas cactáceas es **circinótropo** (óvulo que presenta una nucela recta y tiene el micropilo muy cerca del hilo, pero con el funículo enrollado alrededor del hilo). En otras ocasiones es **campilótropo** (óvulo caracterizado por presentar la nucela curva y tener un micropilo muy cerca del hilo), es campilótropo debido a que el micropilo se separa por completo del funículo (hilo), que juntos con el rafe y la cálaza, forman sólo un área relativamente pequeña en la superficie de la semilla, y en muchas semillas de cactus, es una parte común del desarrollo de la semilla. (Engleman, 1960). Esta área es llamada zona hilo-micropilar (Barthlott y Voit, 1979, citado por, Bregman y Bouman, 1983). El micropilo e hilo a veces son separados por una zona de células esclerotizada de la testa que se presenta en Pereskioideae (*Pereskia*) y en algunas Echinocactaeae como los *Echinocactus*,

Echinomastus, *Coryphanta* y *Homalocephala*. Y por la lejanía de parentesco, en muchos géneros el micrópilo e hilo están unidos para formar una zona de células no esclerotizada. El embrión muchas veces posee un hipocótilo bien desarrollado y cotiledones reducidos. Sólo Pereskioideae y Opuntioideae poseen cotiledones más largos que el hipocótilo. Como una regla el endospermo es absorbido completamente por el embrión, pero a veces, remanentes del endospermo están presentes cerca del micrópilo. En algunas subfamilias el perispermo situado principalmente entre los cotiledones y el hipocótilo, sigue siendo abundante, pero en grupos más evolucionados de cactáceas el perispermo ha desaparecido, y su función de almacenamiento ha sido tomada por el hipocótilo. El embrión es rectangular o globular, recto o curvo, puede ser incumbente (donde la parte posterior de un cotiledón se curva hacia el hipocotilo) o acumbente (la orilla de cada uno de los cotiledones se dirige hacia el eje del embrión) (Engleman, 1960).

La zona hilo-micropilar puede ser reducida por hundimiento de las células funiculares. Esto puede guiar a la formación de una cavidad (taza del hilo). La profundidad de esta depresión es provista por la denominada "elevación funicular", que esta formada por la unión del rafe y el origen del exterior del integumento durante el desarrollo de la semilla (Engleman, 1960).

A veces el tejido funicular queda demasiado pequeño para dar origen a un arilo alrededor de una semilla o un estrofiolo. En Opuntioideae los caracteres circinótrofos del óvulo son responsables de la formación de una estructura ariloide, que solo dejan el micrópilo descubierto. En otros géneros el tejido funicular se desarrolla poco lateralmente para formar una masa de células no lignificadas al final del hilar de la semilla (estrofiolo). Estas células forman una especie de collar alrededor de la zona hilo-micropilar (*Notocactus*, *Gymnocalycium*) o se desarrolla en una elevación amorfa de células cuales están relativamente grandes en *Blossfeldia*, *Parodia*, *Krainzia* y *Strombocactus*. Se cree que el estrofiolo tiene algunas funciones en la dispersión de las semillas y en la absorción de agua para la germinación (Bregman y Bouman, 1983).

Cota (1985) menciona que las semillas de *Ferocactus latispinus* miden en promedio 1.6 mm de longitud por 0.5 mm de ancho (Figura 3). Pueden ser reniformes u oblongas; de color castaño rojizo a castaño mate brillante. Posee una ornamentación particular en la testa, es decir de tipo foveolada (con pequeños oquedades sobre la testa). En la parte superior de la semilla se distinguen estructuras como el micrópilo e hilo. En la parte interna se observan los cotiledones así como el embrión, en el embrión se aprecia la radícula y el hipocótilo.

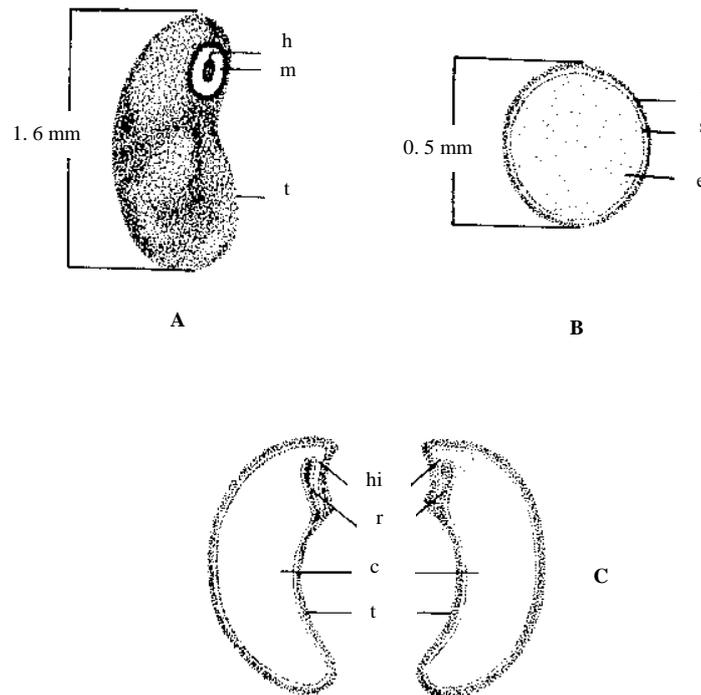


Figura 3. Estructura de la semilla de *Ferocactus latispinus*. A. Testa con ornamentación foveolada, Corte transversal, C. Corte longitudinal. (h: hilo, m: micrópilo, t: testa, s: escutelo, e: endospermo, hi: hipocótilo, r: radícula, c: cotiledón). (Tomado de Cota, 1985).

El peso de las semillas puede llegar a variar entre especies, Del Castillo (1986) reporta el peso (mg) de semillas en diferentes especies de cactáceas (Tabla 1) los cuales tienden a variar entre diferentes especies del género *Ferocactus*:

Tabla 1. Pesos de semillas en diferentes especies de Cactáceas

Especie	Localidad	Peso (mg)
<i>Ferocactus histrix</i>	Mexquitic, SLP.	0.300
<i>Ferocactus latispinus</i>	Villa de Reyes, SLP	0.300
<i>Ferocactus histrix</i>	Metztlán, Hgo.	0.320
<i>Ferocactus glaucescens</i>	Sierra de Álvarez, SLP.	0.410
<i>Ferocactus victoriensis</i>	Jaumave, Tamps.	0.650
<i>Stenocereus dumortieri</i>	Metztlán, Hgo.	0.790
<i>Ferocactus pilosus</i>	Estación Catorce	1.160
<i>Echinocactus platyacanthus</i>	Villa de Artista, SLP	1.740
<i>Cephalocereus senilis</i>	Metztlán, Hgo.	2.140
<i>Opuntia robusta</i>	Salinas, SLP.	16.800

En cuanto a la forma de la ruptura de la testa Del castillo (1986) evaluó la germinación de *Ferocactus histrix* observando que la emergencia de la radícula ocurre por fractura de la testa a partir del área micropilar, los cotiledones brotan de la semilla arriba de la superficie del suelo por lo que la germinación es epigea. Bregman y Bouman (1983) hacen mención de un tipo de una variante de germinación encontrada en Ferocactinae y Coryphanthinae (variantes 10 y 11) en donde se observa una ruptura dorsal que aparece después de la imbibición de la semilla, ésta suele continuar a través de la zona hilo-micropilar como en *Mammillaria*.

4.1- La semilla como unidad de dispersión

El término se refiere a la acción de ubicar semillas y/o frutos a determinada distancia de la planta madre contribuyendo directamente en la distribución espacial de las especies (Abraham de Noir *et al.*, 2002).

Algunos frutos maduros son consumidos por animales, otros, simplemente se abren y dejan en libertad a las semillas. Los frutos secos se abren por grietas o poros que forman en la región basal, y los carnosos lo hacen reventándose, exponiendo así la pulpa y la semilla (Bravo-Hollis y Scheinvar, 1999).

Generalmente dentro de la familia Cactaceae las semillas son transportadas por diferentes vectores: viento (anemócora) y animales, sin embargo, también puede considerarse el agua (hidrócora) como un tercer vector.

El transporte a través del viento es poco común; tan solo existe un exponente siendo el género *Pterocactus* del Sur de Argentina, cuyo arilo de la semilla es poco leñoso, plano y ancho, sirviendo como un ala (Bregman, 1988).

El transporte a través de animales (Zoocora) es dividido por tres vías (van der Pijl, 1972 citado por Bregman, 1988). En donde las semillas y frutos muestran adaptaciones para cada variante.

Endozoocora, que implica el consumo de frutos u otras partes específicas por parte de algunos vertebrados como aves, reptiles roedores, quirópteros, carnívoros o algún otro mamífero. Generalmente las semillas poseen una testa resistente a los ácidos estomacales.

Epizoocora, en donde las semillas son transportadas pasivamente sobre el exterior del animal, ejemplo de ello, son las aves consumidoras de frutos, cuyas semillas son rodeadas por una capa delgada que hace que queden adheridas al plumaje de estas. Las semillas y la pulpa serán limpiadas sobre las ramas de árboles o arbustos donde las semillas pueden encontrar condiciones adecuadas para su germinación (Bregman, 1988).

Sinzoocora, para tal variante la semilla es transportada intencionalmente o deliberadamente de forma externa por un animal, en muchos de los casos las

hormigas participan, sin embargo, otros insectos pueden actuar. La dispersión de semillas por hormigas (mirmecocora) proporciona ciertas ventajas a la planta, por ejemplo la diseminación a sitios distantes y la posibilidad de colonizarlos; reducción del consumo del vegetal por parte de herbívoros ya que la lejanía de la planta parental reduce la posibilidad de encuentro de los fitófagos con los retoños o renovales, evitan la competencia de la planta madre con las semillas, y por último el entierro de semillas (Sosa, 1997). Del Castillo (1982) menciona que en el caso de *Ferocactus histrix* existe cierto mutualismo con las hormigas y a su vez es beneficiado con la dispersión de sus semillas, ya que están envueltas por una capa mucilaginosa y presentan un funículo persistente, que funciona a modo eleosoma, facilitando su transporte, aunque este tiende a ser limitado y cercano a la planta madre.

Transporte por agua (**hidrócora**)

Algunas semillas son dispersadas por corrientes de agua, principalmente en especies que habitan en valles de ríos. Por ejemplo el género peruano *Matucana* (Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanez, 2000) y *Selenicereus wittii*, donde la estructura de la semilla le permite flotar (Bartholott *et al.*, 1997 citado por Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanez, 2000). Bregman (1988) también sugiere que algunas semillas poseen y difieren en su capacidad de flotación, esto bajo experimentos de laboratorio. Las semillas dispersadas por agua tienen mecanismos de flotación proporcionados por un hilo grande. La taza del hilo es profunda, con una cubierta delgada y un embrión pequeño.

4.2- Bancos de semillas en el suelo

Un banco de semillas es constituido por semillas viables sin germinar, presentes generalmente en el suelo, ya sea, sobre la superficie, cubiertas o mezcladas en una capa de hojarasca y humus. Estos suelen variar en duración, denominándose persistentes o temporales; para los bancos persistentes las semillas latentes de una especie siempre se encontrarán en el suelo permaneciendo viables por mas

de un año, siendo viables hasta la segunda temporada de germinación (cuando las condiciones ambientales son favorables para la germinación), por el contrario, en los bancos de semillas temporales su duración se limita al tiempo de dispersión o diseminación, es decir, no alcanzan la viabilidad para la segunda estación de germinación. Las semillas recién dispersadas poseen tres destinos en el suelo: la germinación inmediata a la llegada al suelo; entrar en un periodo de latencia que dura hasta que las condiciones ambientales sean propicias; y por último, el consumo por depredadores y parásitos, o simple muerte por envejecimiento natural (Baskin y Baskin, 2001; Vázquez-Yanes *et al.*, 2006).

4.3- Banco de semillas aéreo

Lamont (1991) citado por Baskin y Baskin (2001) define el término serótina a plantas cuya parte de, o toda la cosecha de semillas es retenida por la planta madre por un tiempo después de que la semilla ha madurado, caso contrario a las plantas no serótinas cuyas semillas son dispersadas en la madurez. Para tal caso Bravo-Hollis y Scheinvar (1999) hacen mención de la biznaga *Ortegocactus macdougallii* cuyos frutos quedan postrados entre los tubérculos casi por cinco años.

Requerimientos para la formación de bancos de semillas: Disponer de luz para germinar (fotoblastismo positivo) el cual es regulado por el fitocromo absorbiendo longitudes de onda de 600 a 800 nm y detectando el balance rojo/rojo lejano, la función de este pigmento es imponer la latencia cuando las condiciones lumínicas son desfavorables para el establecimiento de plántulas; tener un tamaño pequeño, facilitando pasar desapercibidas ante los depredadores; requerir de un periodo de postmaduración para germinar, en algunas semillas el embrión no se encuentra desarrollado al momento de su dispersión, por lo que es necesaria su maduración; tener longevidad ecológica (Rojas-Aréchiga y Batis. 2001). Es decir que permanezcan viables por gran cantidad de tiempo en su medio.

Bowers (2000) verificó si la especie *Ferocactus wislizeni* tiene la capacidad de formar un banco de semillas interanuales (intermitencia de un año para la formación del banco de semillas) esto bajo condiciones controladas. Encontró que

las semillas de *F. wislizenii* pueden persistir en el suelo al menos 18 meses si el factor depredación es eliminado; además *F. wislizeni* puede formar bancos interanuales.

5.- Pruebas de viabilidad

A veces cuando una semilla se encuentra en condiciones apropiadas para germinar esta no lo hace. Esta incapacidad puede ser debido a la latencia que es una condición temporal en semillas vivas, que a menudo puede ser modificada artificialmente, o a la pérdida de viabilidad que es un cambio degenerativo irreversible y generalmente representado por la muerte de las semillas. A menos que sea definida de otra manera, como una semilla no viable, será aquella que no pueda germinar cuando se dan las condiciones adecuadas. De esta manera una semilla viable es aquella que puede germinar bajo condiciones favorables, a condición de que si la dormancia esta presente, sea removida (Roberts,1972).

Una semilla puede germinar si está viva, el que germine o no dependerá de las circunstancias externas, humedad, temperatura y luz.

Existen varias pruebas de viabilidad (Tabla 2) entre estas destaca la de 2,3,5 cloruro de trifenil tetrazolio (CTT), donde las semillas son despojadas de sus cubiertas externas y después cortadas en dos mitades procurando que el embrión sea cortado, las dos mitades se sumergen en una disolución de CTT y se mantienen en oscuridad en un periodo de 30 a 60 minutos, las semillas al estar suficientemente embebidas activan su sistema mitocondrial se vuelve funcional habiendo establecido un grado de respiración basal en el cual se están oxidando los bajos contenidos de monosacáridos que el embrión haya tomado del endospermo o para el caso de cactáceas de los cotiledones. La respiración implica que se establezca un flujo de electrones en las cadenas mitocondriales de transporte; al poseer la sal de tetrazolio un potencial oxido-reducción intermedio entre los transportadores de la cadena, el flujo de electrones será captado por el compuesto, el 2, 3, 5-trifenil tetrazolio en el estado oxidado es soluble e incoloro,

pero al reducirse toma los electrones del flujo respiratorio se convierte en formazán, insoluble y de color rosado (Cordero, 1976; Baskin y Baskin, 2001).

Prueba de Flotación: las semillas son colocadas en agua y las que flotan son descartadas como no viables. Esto suponiendo que las semillas vacías es decir, no han desarrollado convenientemente el embrión y el endospermo, son más ligeras y flotan.

Tabla 2. Pruebas de viabilidad para semillas (Tomado de Vázquez-Yanes *et al.*, 1997).

Prueba	Observaciones
2,3,5 difeniltetrazolio (Concentraciones de 1 a 5%)	Se debe conocer muy bien la morfoanatomía de la semilla, en particular del embrión, de lo contrario se puede considerar viable, o muerta, una semilla en forma equivocada.
Respirometría por el método Warburg	Requiere de un volumen mínimo de 10gr de semillas para poder detectar su respiración.
Rayos X	Puede detectar únicamente semillas vanas o dañadas por parásitos
Impregnaciones de cloroformo y rayos X	Puede detectar semillas vanas o dañadas por parásitos con más precisión que el caso anterior
Flotación	Separa las semillas vanas de las llenas. En el caso de semillas muy pequeñas hay que vencer la tensión superficial.
Germinación	Es un método muy eficiente, se requiere reconocer bien la forma adecuada para germinar y/o romper la latencia.

6.- Germinación de semillas de cactáceas en condiciones *ex vitro*

Existen reportes de germinación de varias especies de cactáceas bajo condiciones *ex vitro* (Tabla 3), algunas alcanzan elevados porcentajes de germinación a pesar de tener un periodo de almacenamiento de sus semillas por tiempo prolongado que va desde los cuatro hasta los diez años; dentro de éstas se encuentran especies del género *Ferocactus* que alcanzan porcentajes de germinación

elevados. Cada especie se comporta de manera diferente si se considera al porcentaje de germinación como una prueba de viabilidad. Bajo condiciones controladas las semillas de cactáceas pueden permanecer viables por tiempo considerable, Bowers (2000) menciona que semillas de *Ferocactus wislizeni* pueden persistir en el suelo al menos 18 meses (esto bajo condiciones de laboratorio). Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes (2000) mencionan que una vía para conservar especies amenazadas por métodos *ex situ* es creando bancos de germoplasma o bancos de semillas que puedan mantener viables si son puestas cuidadosamente bajo condiciones controladas y baja humedad relativa, así la viabilidad puede mantenerse por grandes periodos de tiempo.

Tabla 3. Viabilidad en diferentes especies de cactáceas (Cuadro elaborado con datos de Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000.)

Especie	Porcentaje de germinación	Tiempo de almacenamiento	Condiciones de almacenamiento	Autor
<i>Carnegiea gigantea</i>	4 - 51	1 0 años	No se menciona	Alcorn y Martin, 1974
<i>Oreocereus erectocylindrica</i>	Superior a 80	3 años	No se menciona	Zimmer y Schultz, 1975
<i>Eulychnia castanea</i>	Superior a 90	4 años	No se menciona	
<i>Brasilicactus</i>	No viables	4 años	No se menciona	Fearn, 1977
<i>Ferocactus herrerae</i>	80	10 años	No se menciona	Fearn, 1977
<i>Ferocactus emory</i>	90	10 años	No se menciona	Fearn, 1977
<i>Ferocactus histrix</i>	98%	2 años	Frascos de vidrio; 100 semillas	Del castillo, 1986
<i>Melocactus sp.</i>		5 años o más		
<i>Matucana sp.</i>	Alto	4 a 5 años	No se menciona	
<i>Parodia sp.</i>		9 años		
<i>Ferocactus latispinus var spiralis</i> <i>Echinocactus platyacanthus var. grandis</i>	Superior a 50	6 años	Contenedores de cristal a temperatura ambiente ($20 \pm 2^{\circ}\text{C}$)	Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes (obs. pers), 1999

En si la germinación puede ser afectada por factores ambientales, por ello, se han elaborado estudios tomando en cuenta algunos factores como la calidad de luz, tratamientos pre-germinativos, origen, peso, edad de la semilla, entre otros, (Tabla 4) con la finalidad de entender el papel de diferentes variables.

Tabla 4.- Reportes de germinación de diferentes especies de cactáceas sometidas a distintos tratamientos o condiciones.

Especie	Fecha de colecta o tiempo de almacenamiento	Condiciones de almacenamiento	Variables o tratamientos de las semillas	Resultados (porcentaje de germinación)	Autor
<i>Astrophytum myriostigma</i>	Colectadas en verano del 94 Sembradas a mediados de agosto	Almacenadas en bolsas de papel	Tres sitios de colecta en San Luís Potosí. Presa Guadalupe, Cerro prieto y Palomas. Las semillas incubadas a cuatro temperaturas constantes (20, 25, 30, 35°C)	20°C Presa Guadalupe: 86% Cerro prieto: 80% Palomas: 90% 25°C Presa Guadalupe: 93% Cerro prieto: 90% Palomas: 98% 30°C Presa Guadalupe: 62% Cerro prieto: 38% Palomas: 69% 35°C Presa Guadalupe: 19% Cerro prieto: 13% Palomas: 67%	Arredondo y Camacho, 1995
<i>Pachycereus pecten-aboriginum</i>	No se menciona	Almacenadas en bolsas de papel a temperatura ambiente	Tratamientos térmicos (-5, 12, 26, 37, 45,55 y 70 por periodos de 2 horas a 22 días). Tratamiento ácido (inmersión en 0.37, 0.75, 1.5, 3.0 y 0.3 molar de HCL por 3 min). Calidad de luz con 12 días de iluminación (12/12hr) utilizando luz blanca (control), roja, azul, verde, amarilla. Tratamiento salino (0, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, y 0.3 M de NaCl). Irradiación solar: Exposición total (100%), 50% del total, y 20% de exposición total. Humedad del sustrato con baja saturación, normal y sobresaturación (2, 8 y 10 ml de agua)	El mayor porcentaje fue a 45°C superior al 60%, los 70°C inhibieron la germinación. <u>Los tratamientos ácidos</u> apenas superan el 60%, la concentración 6M inhibe ligeramente la germinación. <u>En la calidad de luz</u> no hubo diferencias significativas, consiguiendo un porcentaje alrededor del 60%, la oscuridad inhibe ligeramente la germinación. <u>Tratamiento salino:</u> concentraciones 0.2 y 0.3 inhibieron la germinación por completo. El testigo logro un 55%. <u>Irradiación solar</u> al 20 y 50% no tuvieron diferencias, con un 60% de germinación. La exposición completa inhibió la germinación. <u>La saturación con 8ml:</u> alrededor de 62%, 12 ml 30% y 2ml (0%).	Vega-Villasante et al., 1996

Continua Tabla 4.- Reportes de germinación de diferentes especies de cactáceas sometidas a distintos tratamientos o condiciones.

Especie	Fecha de colecta o tiempo de almacenamiento	Condiciones de almacenamiento	Variables o tratamientos de las semillas	Resultados (porcentaje de germinación)	Autor
<p><i>Cephalocereus chrysacanthus</i></p> <p><i>C. hoppenstedtii</i></p> <p><i>Ferocactus latispinus</i></p> <p><i>Stenocereus stellatus</i></p> <p><i>Wilcoxia viperina</i></p>	No se menciona	Almacenadas en frascos de vidrio a temperatura ambiente	<p>inmersión en Ácido clorhídrico: a 1 N, 2 N y 3 N</p> <p>Imbibición en algodón por 36 horas.</p> <p>Escarificación Mecánica con suelo del lugar de origen.</p> <p>Semillas sin tratamiento</p>	<p>Análisis de comparaciones múltiples mostró que el porcentaje de germinación de <i>C. chrysacanthus</i> Fue el más bajo (36%); las demás especies promediaron 79%, la escarificación mecánica alcanzó una media de 33.8%, los demás tratamientos alcanzaron una media de 77.8%. <i>W. viperina</i> alcanzó un 35% para el tratamiento anterior, el resto no superó el 35%. <i>C. hoppenstedtii</i> germinó al primer día.</p>	Álvarez y Montaña, 1997
<i>Opuntia joconoscle</i>	1990-1991	No se menciona	<p>Porcentaje de viabilidad con sales de tetrazolio, en condiciones de invernadero se aplico:</p> <p> escarificación con ácido sulfúrico concentrado por 3, 6, 9 y 12 minutos, e imbibición con ácido giberélico (100 ppm), por 24 y 48 minutos.</p> <p> Bajo condiciones de laboratorio: se aplicaron tratamientos de escarificación con ácido sulfúrico por 3, 6, 9, 12, 30, 45, y 60 minutos; ruptura parcial de la cubierta e imbibición con soluciones de ácido giberélico con: 20, 40, 60, 80, y 100ppm durante 30 y 60 min; y precalentamiento a punto de ebullición por 5, 10 y 20 min.</p>	<p>94% de viabilidad</p> <p>El mejor tratamiento fue el de la ruptura parcial de la cubierta y adicionalmente al imbibición con ácido giberélico. El mayor porcentaje de germinación (80%) se presentó con 40 ppm e imbibición por 30 minutos. En condiciones de invernadero, en el tratamiento con ácido giberélico por 24 min alcanzo un 4%, en cuanto a escarificación solamente germinó un 10% bajo los tratamientos con 12 y 45 min en ácido sulfúrico a una temperatura de 32°C</p>	Sánchez, 1997

Continua Tabla 4.- Reportes de germinación de diferentes especies de cactáceas sometidas a distintos tratamientos o condiciones.

Espece	Fecha de colecta o tiempo de almacenamiento	Condiciones de almacenamiento	Variables o tratamientos de las semillas	Resultados (porcentaje de germinación)	Autor																																				
<i>Mamillaria magnimamma</i>	Un mes y Un año	Almacenadas en bolsas de papel estraza, en oscuridad y a temperatura ambiente	Luz-oscuridad, temperaturas constantes (15 y 25 °C) y fluctuantes, pre-tratamientos de alta temperatura (4 y 12 horas a 90°C) y pre-tratamientos con HCL(pH 0.7 y 1.7 por 60 min).	<p style="text-align: center;">% final de germinación</p> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;">1 mes</td> <td style="width: 15%;">1 año</td> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;">1 mes</td> <td style="width: 15%;">1 año</td> </tr> <tr> <td><u>Testigo:</u></td> <td>95.0</td> <td>91.3</td> <td><u>4 hrs a 90°C:</u></td> <td>88.8</td> <td>63.8</td> </tr> <tr> <td><u>oscu-ridad:</u></td> <td></td> <td></td> <td><u>12 hrs a 90°C:</u></td> <td>92.5</td> <td>32.5</td> </tr> <tr> <td><u>15°C:</u></td> <td>15.0</td> <td>62.5</td> <td><u>pH 0.7:</u></td> <td>83.8</td> <td>88.8</td> </tr> <tr> <td><u>25°C:</u></td> <td>87.5</td> <td>91.3</td> <td><u>pH 1.7:</u></td> <td>86.3</td> <td>92.5</td> </tr> <tr> <td></td> <td>91.2</td> <td>83.8</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>		1 mes	1 año		1 mes	1 año	<u>Testigo:</u>	95.0	91.3	<u>4 hrs a 90°C:</u>	88.8	63.8	<u>oscu-ridad:</u>			<u>12 hrs a 90°C:</u>	92.5	32.5	<u>15°C:</u>	15.0	62.5	<u>pH 0.7:</u>	83.8	88.8	<u>25°C:</u>	87.5	91.3	<u>pH 1.7:</u>	86.3	92.5		91.2	83.8				Ruedas <i>et al.</i> , 2000
	1 mes	1 año		1 mes	1 año																																				
<u>Testigo:</u>	95.0	91.3	<u>4 hrs a 90°C:</u>	88.8	63.8																																				
<u>oscu-ridad:</u>			<u>12 hrs a 90°C:</u>	92.5	32.5																																				
<u>15°C:</u>	15.0	62.5	<u>pH 0.7:</u>	83.8	88.8																																				
<u>25°C:</u>	87.5	91.3	<u>pH 1.7:</u>	86.3	92.5																																				
	91.2	83.8																																							
<i>Mamillaria haageana</i> <i>M. carnea</i> <i>M. mystax</i> <i>M. supertexta</i>	Sembradas inmediatamente después de la colecta	No hubo	Diferentes calidades de luz (luz roja lejana, blanca, roja y oscuridad con 12 horas de fotoperiodo) a 25°C constantes.	<p>Todas fueron fotoblásticas positivas, no hubo germinación en oscuridad a 25 °C. El porcentaje de germinación consiguió un 80% en luz roja y blanca en todas las especies.</p> <p><i>M. mystax</i> y <i>M. supertexta</i> superaron el 80%, mientras que <i>M. carnea</i> fue inferior a 80% esto bajo la luz roja lejana.</p> <p>A temperaturas fluctuantes solo <i>M. mystax</i> germinó en todas las condiciones, el máximo lo alcanzó <i>M. haageana</i> superando el 90% a 25°C. <i>M. mystax</i> superó el 95% a 20/35 °C.</p>	Benítez-Rodríguez <i>et al.</i> , 2004																																				
<i>Stenocereus beneckeii</i>	Dos meses	No se menciona	Clasificadas en cinco categorías de peso (mg): 1.- 3,7 - 7,2 2.- 7,3 - 10,8 3.- 10,9 -13,2 4.- 13,3 -16,8 5.- 16,9 - 21	El menor porcentaje de germinación fue de 11% para la categoría uno; categorías dos a cinco superaron el 70% y la intermedia (tres) alcanzó un 84%. Estas germinaron entre el séptimo y octavo día.	Ayala-Cordero <i>et al.</i> , 2004																																				

7. Germinación de semillas de cactáceas en condiciones *in vitro*

Bajo condiciones *in vitro* se realiza la siembra de semillas, cuyas plántulas resultantes serán utilizadas como fuente de explantes, las condiciones controladas a las que se encuentran hacen esperar que los porcentajes de germinación sean elevados, esto no suele ser así, aunque cada especie se comporta de manera diferente, este aspecto quizás sea modificado por el periodo y condiciones de almacenamiento de las semillas, así como la concentración del medio de cultivo utilizado (ya sea al 50 y 100% de su concentración). En la Tabla 5 se muestran diferentes especies con sus respectivos porcentajes de germinación. El medio más utilizado es el Murashige & Skoog 1962 (MS) al 50% de macronutrientes, micronutrientes y sacarosa; así como la combinación agua/agar, en ambos se alcanzan altos porcentajes de germinación debido a la baja cantidad de solutos que favorecen una rápida imbibición de las semillas. También puede notarse que semillas con un corto periodo de almacenamiento generan porcentajes de germinación altos comparados con semillas de mayor tiempo de almacenamiento.

Tabla 5. Porcentajes de germinación en semillas de cactáceas bajo condiciones *in vitro*.

Espece	Fecha de colecta o días de almacenamiento	Medio de cultivo	Porcentaje de germinación	Autor
<i>Astrophytum myriostigma</i>	No se menciona	Murashige & Skoog, 1962 al 50% de sus componentes (MS 50%)	85%	Santos <i>et al.</i> , 2001
<i>Polaskia chichipe</i>	No se menciona	Agua/agar MS 50%	90% 80%	Rosas, 2002
<i>Echinocactus platyacanthus</i>		Agua/agar MS 50%	84% 88%	
<i>Hylocereus undatus</i> <i>Stenocereus griseus</i> <i>S. queretaroensis</i> <i>S. gummosus</i>	No se menciona	MS 100% adicionado con Bencilaminopurina (2mg/L) y Kinetina (1 mg/L)	84% 60% 15.2% 12.9%	Cuéllar <i>et al.</i> , 2006

Continúa Tabla 5. Porcentajes de germinación en semillas de cactáceas bajo condiciones *in vitro*.

Especie	Fecha de colecta o días de almacenamiento	Medio de cultivo	Porcentaje de germinación		Autor
<i>Cephalocereus senilis</i>	Julio, 2002	MS (sacarosa 30gr/l) MS 50% Agua/Agar	98% sin escarificar. 22% sin escarificar. 0% sin escarificar.	70%* 6%* 4%*	Tapia, 2006
<i>Mammillaria schiedeana</i>	2002 (lote 1) 2004 (lote 2) 2004 (lote 3)	MS 50% más carbón activado (1gr/L)	Lote 1: 32%* Lote 2: 76%* Lote 3: 71%*		Soria, 2006
<i>Astrophytum ornatum</i>	No se menciona	MS 50% MS 100% Agua/Agar	82.2%* 77.7%* 75.5%*		Mendoza, 2007
<i>Mammillaria coahuilensis</i>	2000 (lote 1) cuatro años de almacenamiento 2005 (lote 2) 6 meses de almacenamiento	Agua/agar MS 50% MS 50% más carbón activado (1.5 gr/ L) Agua/agar MS 50% MS 50% más carbón activado (1.5 gr/ L)	60% 38.7% 34.6% Promedio: 45.03% 100% 90% 83.3% Promedio: 91.1%		Flores, 2007
<i>Echinocactus grusonii</i>	Colectadas en Noviembre del 2002 Y sembradas el 25 de Enero del 2006 1156 días de almacenamiento	MS 50%	72%*		Martínez, 2007
<i>Thelocactus rinconensis</i>	19/junio/2004 (313 días de almacenamiento) 30/ mayo/ 2005 (162 días de almacenamiento)	MS 50%	79%* 82%*		Díaz, 2007

Continúa Tabla 5. Porcentajes de germinación en semillas de cactáceas bajo condiciones *in vitro*.

Espece	Fecha de colecta o días de almacenamiento	Medio de cultivo	Porcentaje de germinación	Autor
<i>Thelocactus bicolor</i>	20/ julio/2004 (tres meses de almacenamiento)	MS 50%	96.66%*	Zamora, 2007
<i>Echinocactus platycanthus</i>	No se menciona	MS 50% solificado con cuatro agentes gelificantes: Gelrite Gellan Gum (3 gr/L) Agar-agar (6 gr/L) Bacto agar Difco (8 gr/L) Agar bacteriológico Bioxon (8 gr/L)	97.7% 99% 66.6% 86.6%	Loaiza, 2008

* Semillas escarificadas

III.- Justificación

Debido a presiones sobre las poblaciones de cactáceas y a los diversos usos (como forraje, ornamental, alimento, medicinal) del género *Ferocactus*, es importante ampliar el conocimiento sobre viabilidad de las semillas, principalmente bajo condiciones *in vitro*; donde su comprensión es moderada, esencialmente en *Ferocactus latispinus*, permitiendo entender la germinación en la especie, así como poder mejorar su cultivo, siendo ya como fuente de explantes (condiciones *in vitro*) o para su propagación en condiciones *ex vitro*.

IV.- Objetivos

1.-Objetivo general

Determinar si el tiempo de almacenamiento es un factor importante en la disminución de la viabilidad *in vitro* de semillas de *Ferocactus latispinus*.

1.2- Objetivos particulares

- ★ Evaluar si hay diferencias en el porcentaje de germinación de semillas de *F. latispinus* procedentes de diferentes años de colecta.
- ★ Describir el proceso y velocidad de germinación de las semillas en la especie.

3.- Hipótesis

Ho: El tiempo de almacenamiento no afecta el porcentaje de germinación en ninguno de los lotes.

Ha: Al menos un lote responderá de manera diferente en cuanto a su porcentaje de germinación al efecto del tiempo de almacenamiento de las semillas.

V.- Material y método

1.-Colecta de semillas

Frutos de *Ferocactus latispinus* fueron colectados en la comunidad de El Nopalillo, Epazoyucan, Hidalgo (cuyas coordenadas del municipio son: de una latitud de 20°01'05'' y una longitud de 98°08'03'') en cuatro fechas diferentes: Diciembre del 2004, Febrero del 2005, Febrero del 2006 y Mayo del 2007. Las semillas obtenidas de los frutos se lavaron con agua destilada y se dejaron secar, para después almacenarse en bolsas de papel encerado a temperatura ambiente. Un lote de semillas son aquellas que provienen de un sitio, colectadas en una fecha determinada, limpiadas, almacenadas y sometidas a cierto tratamiento.

Para efectuar las pruebas de viabilidad se utilizaron semillas de apariencia saludable (sin fracturas de la testa o aparentemente vanas).

2.- Desinfección de semillas

Las semillas de *F. latispinus* se colocaron en un paquete de papel filtro, y a continuación se enjuagaron en 50 ml de agua destilada con tres gotas de detergente líquido Dawn[®] durante 20 minutos, enseguida se colocaron en 50 ml de alcohol etílico al 70% (v/v) por un minuto, posteriormente se desinfectaron en 50 ml de cloro comercial (NaOCl) al 20% (v/v) más tres gotas de Tween 80 por 30 minutos. Todos los enjuagues se realizaron en agitación constante.

3.- Germinación *in vitro*

Las semillas de *F. latispinus* se enjuagaron por tres ocasiones con agua destilada esterilizada bajo condiciones asépticas en una campana de flujo laminar. Éstas se sembraron en medio Murashige y Skoog (1962) al 50% (de macronutrientes, micronutrientes y sacarosa) más 1g/L de carbón activado y 10 g/L de agar bacteriológico (Anexo II). El medio se distribuyó en frascos de vidrio con una capacidad de 120 ml, en donde se agregaron 30 ml de medio de cultivo. Se sembraron de cada año de colecta, tres lotes de 30 semillas, dando un total de 90 semillas por cada mes de evaluación. Se colocaron cinco semillas por frasco. Al

final los frascos fueron cubiertos con tapas de polipropileno y sellados con plástico adherible (Egapack).

Para determinar el decremento de la viabilidad, las siembras se realizaron durante cinco meses consecutivos para las semillas colectadas en el 2007; mientras que, para los tres lotes restantes (semillas colectadas en los años 2004 y 2005) sólo se realizaron tres siembras en diferentes fechas. Para el lote 2006 se realizaron cuatro siembras en distintas fechas.

Las condiciones de incubación de las semillas fueron controladas con un fotoperiodo de 8 horas oscuridad, 16 luz.; temperatura de 26°C+/-1°C e intensidad luminosa de 43 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

4.- Obtención de curvas de germinación *in vitro*

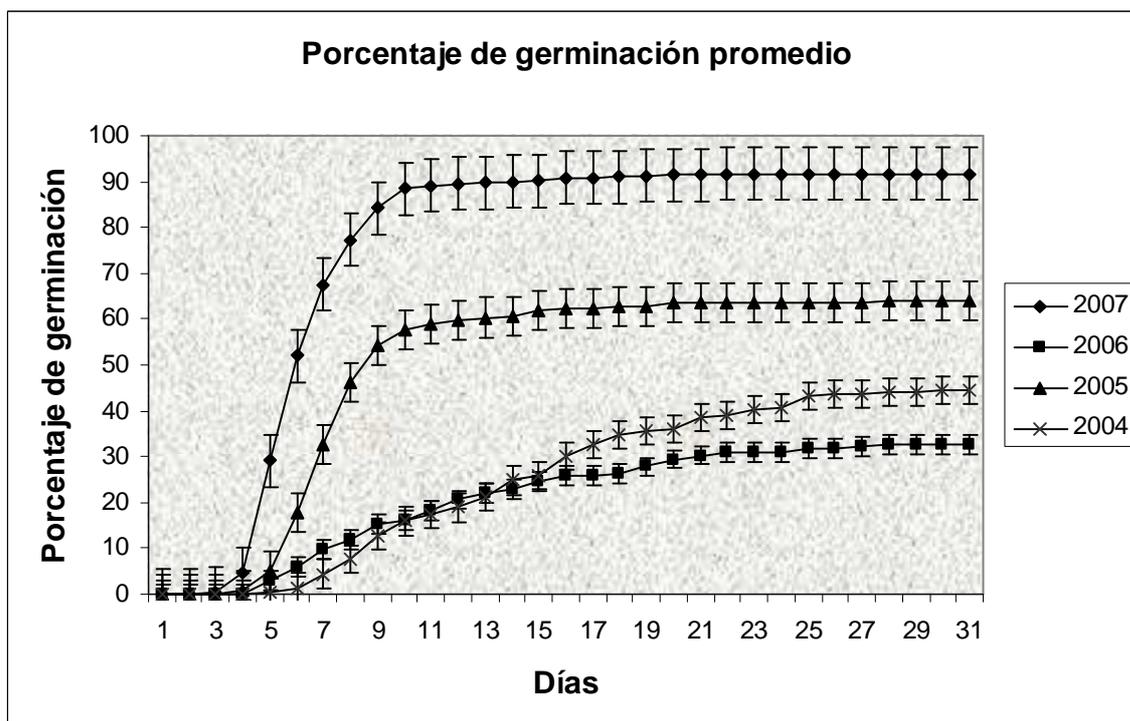
Se registró el número de semillas que germinaron cada día hasta cumplir treinta días de evaluación. Se consideraron germinadas aquellas semillas cuya radícula emergió de la testa, obteniendo al final tres curvas de germinación por cada mes. De estas, se obtuvo un promedio mensual a las cuales se agregaron barras de error estándar. Para agregar barras de error estándar se calculó la varianza de los porcentajes de germinación con la formula $S^2 = (\sum (x_i - \bar{x})^2) / (n - 1)$, para después calcular el error estándar con la formula $E = \sqrt{S^2 / n}$. Se evaluó el porcentaje de germinación a lo largo del tiempo de incubación; los porcentajes de germinación final se transformaron en arco seno ($\sqrt{\%/100}$) y se analizaron con el paquete estadístico SPSS aplicando un análisis de varianza (ANOVA) y, posteriormente se empleó la prueba de Comparación de Medias de Tukey ($P < 0.05$) para determinar si hubo diferencias significativas dentro las siembras de cada lote o año de colecta y entre lotes.

VI.- Resultados:

1.- Porcentaje de germinación final y tiempo de almacenamiento

Al realizar la comparación de las gráficas y porcentajes finales obtenidos de cada lote (Gráfica 5, Tabla 6), se observa que la germinación inicia del cuarto al quinto día en los lotes 2007 y 2005 que tienen un menor tiempo de almacenamiento. El lote de 2007 se almacenó mínimo 15 días y máximo cinco meses, las semillas del lote 2005 tenían entre 33 y 35 meses de almacenamiento. Que en contraste con el lote del 2006 que generó porcentajes de germinación más bajos en todas las siembras realizadas (16.6, 33, 38 y 42%) a pesar de tener menos tiempo de almacenamiento (14, 21, 23 y 26 meses) con respecto al lote del 2005.

Para las semillas colectadas en los años 2004 y 2006 (lotes) el inicio de la germinación se da entre el quinto y sexto día, por lo que puede decirse que el vigor de las semillas ha disminuido con respecto a los lotes 2007 y 2005. Las semillas del



Gráfica 1. Porcentajes de germinación *in vitro* final de los diferentes lotes de *Ferocactus latispinus*.

lote 2004 tenían 35, 37 y 38 meses de almacenamiento y las del 2006 14, 21, 23 y 26 meses.

Durante la germinación en los lotes 2007 y 2005 se observa un incremento exponencial de esta entre el quinto a onceavo día, esta característica no se presenta en los lotes restantes, en ellos la germinación acumulada tiende a ser constante pero en bajo porcentaje.

Tabla 6. Fechas de colecta, de siembra y porcentajes de germinación *in vitro* de cada siembra y el promedio de los cuatro lotes de semillas de *Ferocactus latispinus*.

Fecha de colecta	Fecha de siembra	Almacenamiento (meses)	Germinación (%)	Promedio de germinación (%)
Diciembre 2004	17/10/07	35	54.44	44.44
	28/11/07	36	26.67	
	14/01/08	37	52.22	
Febrero 2005	16/10/07	33	65.56	64.07
	22/11/07	34	61.11	
	14/01/08	35	65.56	
02/Febrero/2006	02/04/07	14	16.67	42.03
	15/11/07	21	42.22	
	15/01/08	23	33.33	
	31/03/08	26	38.89	
29/Mayo/2007	12/06/07	0.5	94.44	91.67
	26/06/07	1	91.11	
	26/07/07	2	94.44	
	28/08/07	3	92.22	
	27/09/07	4	92.22	
	31/10/07	5	85.56	

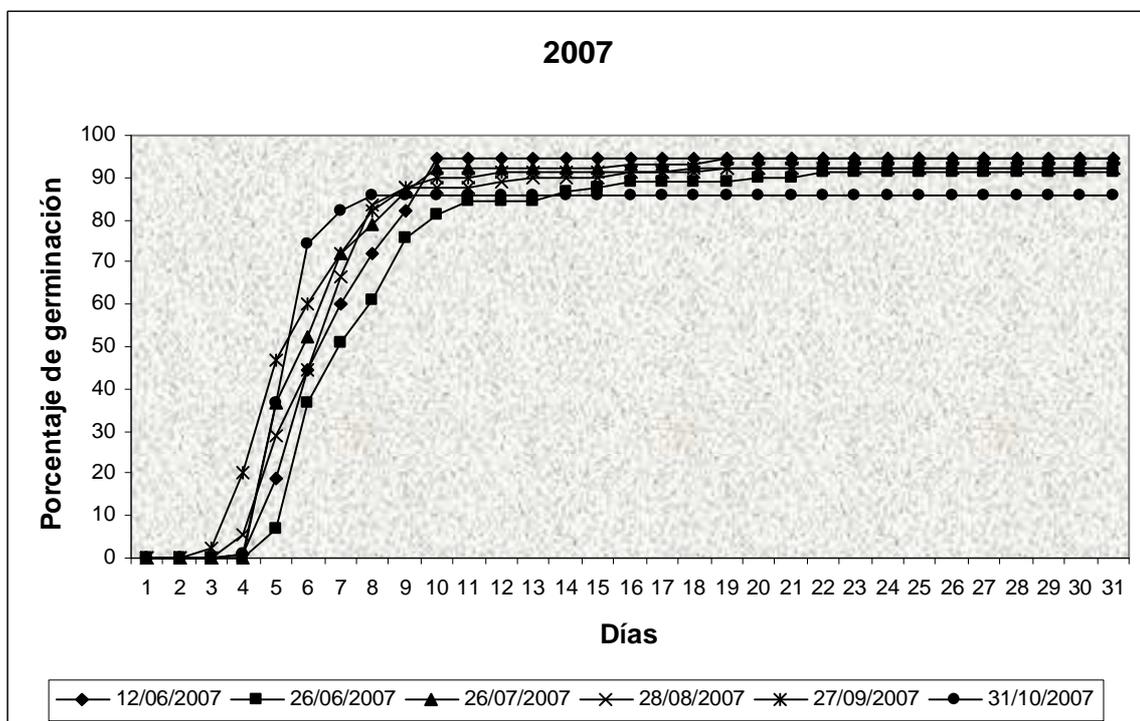
El máximo de germinación es alcanzado en menor tiempo (21 días) en el lote del 2007, seguido del lote 2005 en 26 días y los lotes del 2006 y 2004 en 29 días, lo que indica que un alto porcentaje de germinación para *Ferocactus latispinus* se obtendrá en semillas recién colectadas y que pueden mantener un alto porcentaje de viabilidad (91%) incluso después de estar almacenadas cinco meses,

existiendo el supuesto de que al transcurrir el tiempo de almacenamiento fuera disminuyendo la viabilidad, pero esto no se está cumpliendo debido que el segundo mejor porcentaje de viabilidad (64%) se presentó en las semillas del lote del 2005, y se observó una drástica disminución en los años pares 2004 y 2006, que mostraron porcentajes del 44 y 42%; por lo que no existe una relación directa entre el tiempo de almacenamiento y el porcentaje de viabilidad, probablemente esté interfiriendo otro factor en el comportamiento de la viabilidad.

2.- Curvas de germinación *in vitro*

2.1.- Lote 2007

El porcentaje de germinación varía de 85 al 94%, las curvas de germinación son similares entre sí, pudiendo decir que las semillas germinaron entre el cuarto y quinto día; se incrementó el porcentaje del 10 al 80 – 90% entre el quinto y noveno día y en el onceavo día tiende a alcanzar su máximo porcentaje de germinación (Gráfica 2).

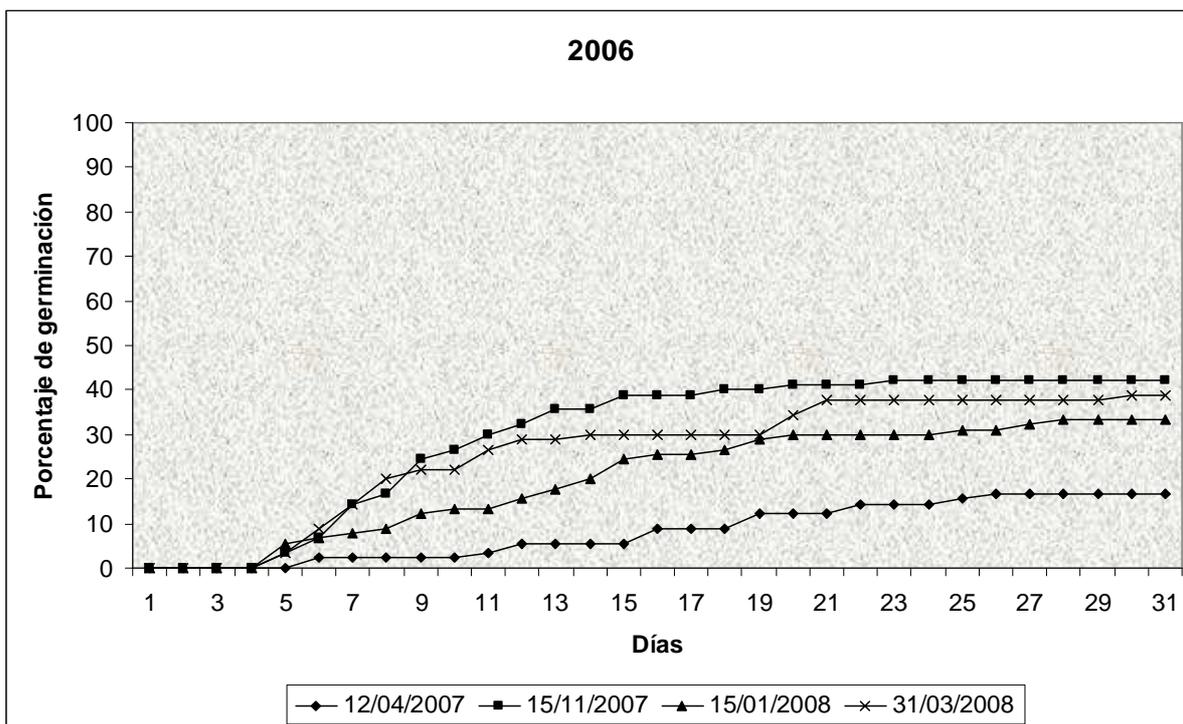


Gráfica 2. Curvas de germinación promedio *in vitro* del lote 2007 de semillas de *Ferocactus latispinus* de seis siembras realizadas de manera consecutiva cada mes.

La última siembra realizada al quinto mes es la que obtuvo el porcentaje menor (85.56%), quizás debido a que en el transcurso de las siembras fueron quedando semillas vanas para realizar este último experimento. Este lote de semillas tuvo como mínimo 15 días de almacenamiento y cinco meses como máximo. Lo que nos indica que para esta especie se obtendrán altos porcentajes de germinación cuando están recién colectadas las semillas, sin embargo no se registraron diferencias significativas entre las seis siembras realizadas.

2.2.- Lote 2006

En este lote los porcentajes de germinación son distintos y van en un rango del 16 al 42%, el inicio de la germinación se presentó entre el quinto y noveno día, su incremento fue irregular del 10 al 20% y el máximo porcentaje se alcanzó entre el vigésimo segundo y vigésimo cuarto día (Gráfica 3).

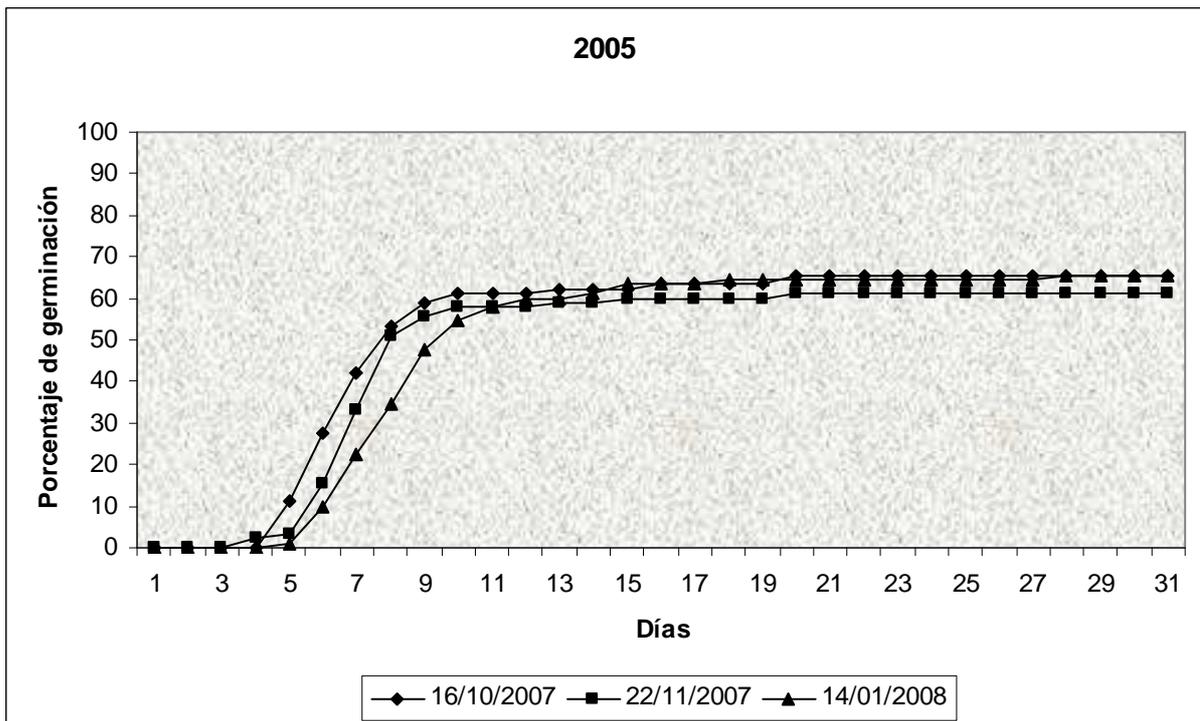


Gráfica 3.- Curvas de germinación promedio *in vitro* del lote 2006 de semillas de *Ferocactus latispinus* de cuatro siembras diferentes

Es importante señalar que en la primera siembra realizada se obtuvo el porcentaje de germinación más bajo (16%) y siete meses después, la segunda siembra alcanzó el 42%, las posteriores siembras con dos y tres meses más de almacenamiento alcanzaron el 33 y 38% respectivamente. A pesar del bajo porcentaje de germinación inicial no se encontraron diferencias significativas entre las cuatro siembras de evaluación. Probablemente las semillas, entre la primera y segunda siembra pasaron por un proceso de postmaduración.

2.3.- Lote 2005

En este lote el porcentaje de germinación final alcanzó entre el 59 y 62%, las curvas de germinación son similares entre sí, tampoco presentan diferencias significativas entre cada mes de evaluación, de tal forma, las semillas iniciaron su germinación en el cuarto día, y se incrementó entre el quinto y

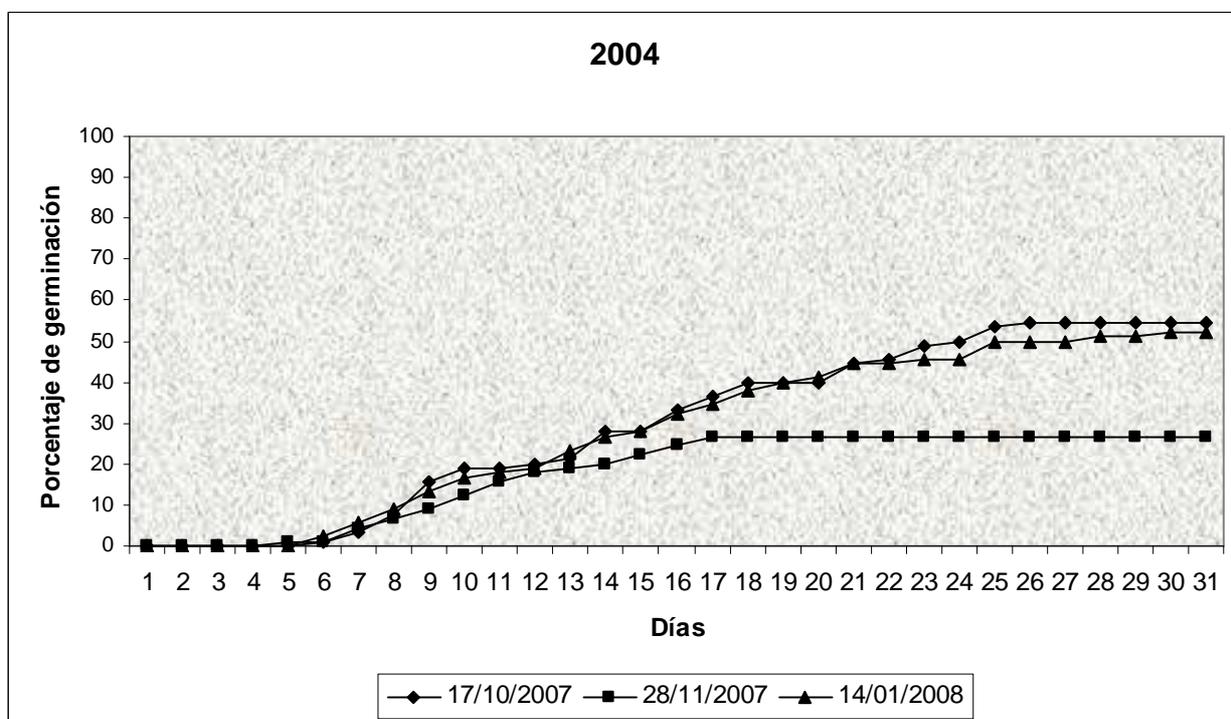


Gráfica 4. Curvas de germinación promedio *in vitro* del lote 2005 de semillas de *Ferocactus latispinus* de tres siembras diferentes.

onceavo día del 40 al 60%, el porcentaje máximo de germinación se alcanzó al onceavo día (Gráfica 4), estas semillas a pesar de haber sido colectadas en el 2005, muestran mejores porcentajes de germinación que el lote del 2006.

2.4- Lote 2004

De manera general se puede señalar que la germinación inicia entre el sexto y séptimo día, se da un incremento paulatino entre el sexto y decimotercer día de un 10 al 20%, incrementandose de manera gradual en los días siguientes (Gráfica 5).



Gráfica 5. Curvas de germinación promedio *in vitro* del lote 2004 de semillas de *Ferocactus latispinus* de tres siembras diferentes.

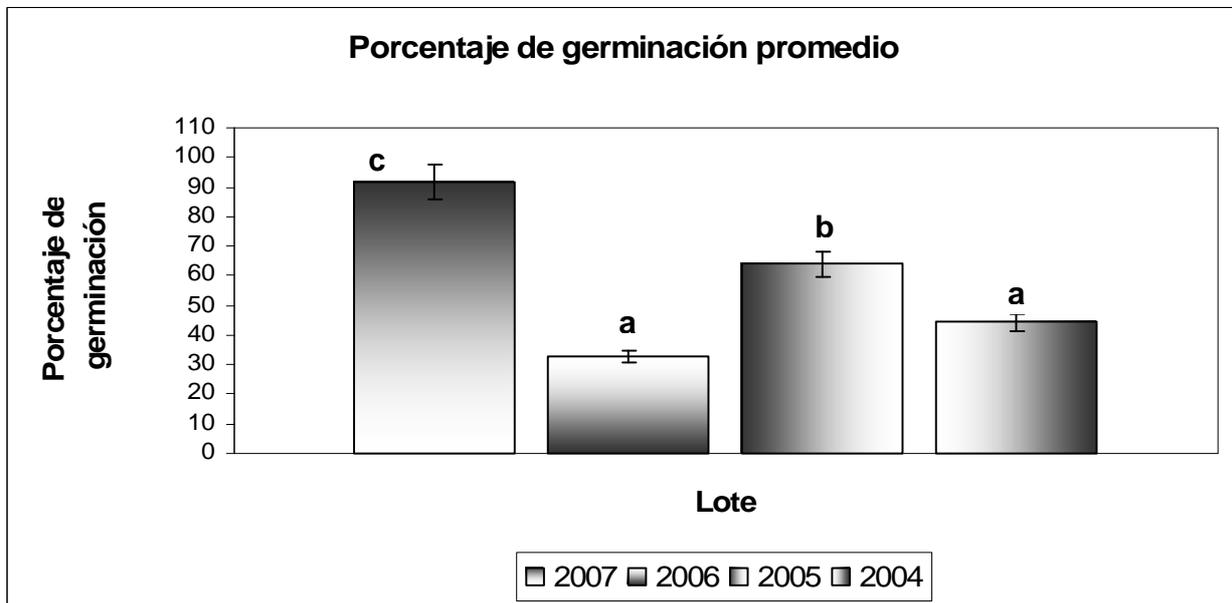
Los porcentajes de germinación alcanzados fueron similares en la primera y tercera siembra del 54.4 y 52.2%, solo que en la segunda siembra esta disminuyó hasta casi la mitad con un 26.6% de germinación, entre la primera y segunda siembra hay solamente un mes de diferencia y entre la primera y tercera tres

meses, este comportamiento no parece tener alguna explicación razonable, debido a que sería factible pensar que al incrementar el tiempo de almacenamiento disminuyera la viabilidad de la semilla, pero en este caso no se da esta situación, como en las semillas del lote del 2006. En este caso se encontraron diferencias significativas ($P= 0.008$). La prueba de Tukey arroja similitud entre la primera y tercera siembra, se encontró diferencia significativa entre la primera y segunda siembra ($P= 0.011$) así como entre la segunda y tercera siembra ($P= 0.015$).

3.- Análisis estadístico

Con los porcentajes germinación *in vitro* obtenidos en cada repetición se realizó un análisis de varianza, donde se encontraron diferencias significativas entre los lotes ($P= 0.000$), por lo que se rechaza la H_0 , es decir, si hay diferencias significativas en los porcentajes de germinación al menos en un lote.

Como puede observarse el lote 2006 tiene el porcentaje de germinación promedio más bajo con 32.78%, siguiéndole el lote 2004 (44.4%); al realizar la prueba de Tukey no se encuentran diferencias significativas entre ambos lotes a pesar de poseer un porcentaje de germinación aparentemente distinto, en cambio el lote 2007 y 2005 obtuvieron porcentajes de germinación promedio elevados de 91.67 y 64.07% respectivamente, sin embargo, el lote 2007 difiere estadísticamente de los lotes 2005 ($P= 0.001$), 2006 y 2004 ($P = 0.000$). De igual manera en el lote 2006 tiene diferencias significativas solo con los lotes 2007 y 2005 ($P = 0.001$), este último difiere estadísticamente del lote 2007 ($P =0.001$), 2006 ($P = 0.000$) y 2004 ($P =0.10$). El lote 2004 tiende a diferir con los años 2007 y 2005. Estos resultados se representan en la gráfica 6.



Gráfica 6. Porcentaje de germinación promedio en semillas de *Ferocactus latispinus* provenientes de cuatro lotes distintos, las letras indican diferencias significativas a nivel $P < 0.05$ según la prueba de Tukey.

4.- Germinación *in vitro*

Después de la imbibición de la semilla, continua la emergencia la radícula, que provoca una ruptura alrededor del área micropilar, en semillas de *Ferocactus latispinus* cuya emergencia de la radícula crea una fractura en el contorno del área micropilar (Figuras 4 A y B). Las fracturas de la testa pueden prolongarse tanto en

la parte ventral o dorsal de la semilla (Figura 5); al continuar emergiendo la radícula se provoca una ruptura lateral en la semilla (Figura 6) junto con un pequeño segmento en el área dorsal de la semilla.

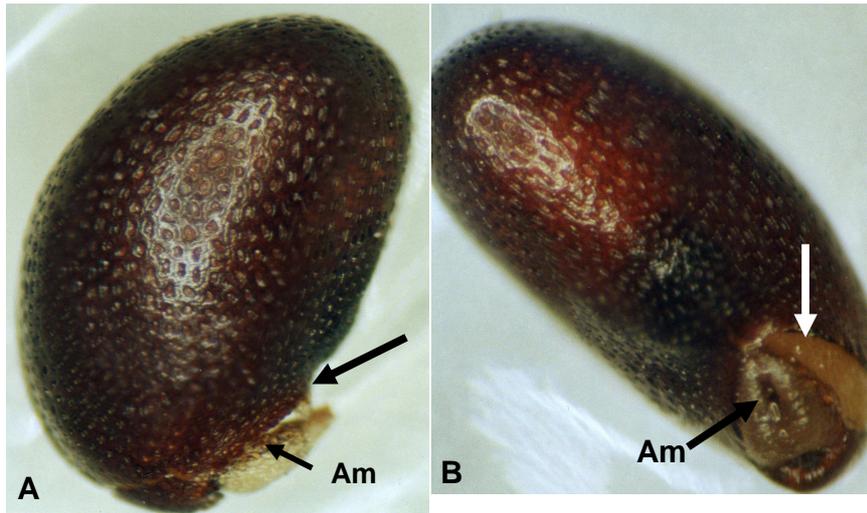


Figura 4. Vista lateral y ventral de semilla de *Ferocactus latispinus*, de superficie foveolada, cuya radícula empuja y fractura la testa alrededor del área micropilar (Am). (52.8X).

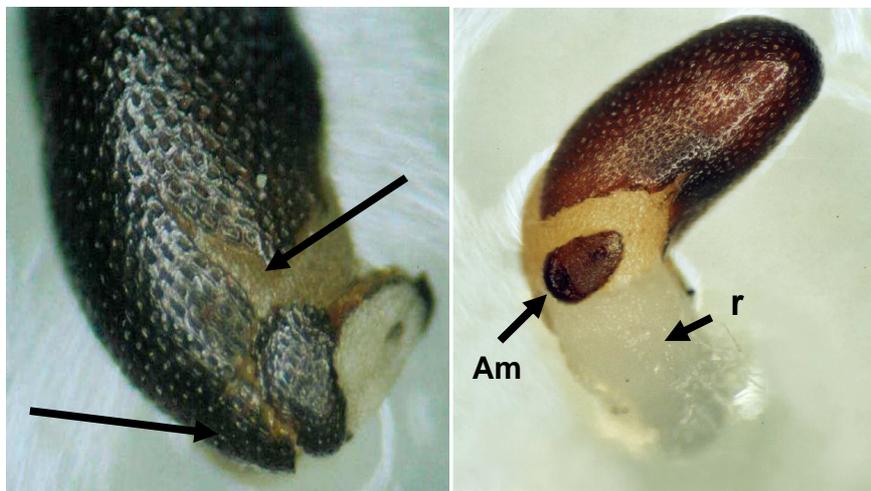


Figura 5. Vista lateral, con fracturas que se prolongan en la parte dorsal y ventral de la semilla (52.8 X).

Figura 6. Vista ventral de la semilla, cuya radícula (r) desprende por completo el área micropilar (Am) (52.8 X).

Ferocactus latispinus presenta una ruptura lateral tal evento, que puede observarse en la figura 6; cuya ruptura lateral avanza hasta la parte media de la semilla acompañada de la ruptura del área micropilar, aunque la semilla carece de un opérculo como tal; la salida de la radícula se da en el área micropilar y no por una ruptura dorsal; ésta última, es empujada, similar a un opérculo, solo que posteriormente se desprende por completo. Al seguir emergiendo la radícula en *Ferocactus latispinus* se genera la ruptura transversal de la testa, que va desde la parte ventral a dorsal, desprendiendo un costado de la testa (Figura 7).

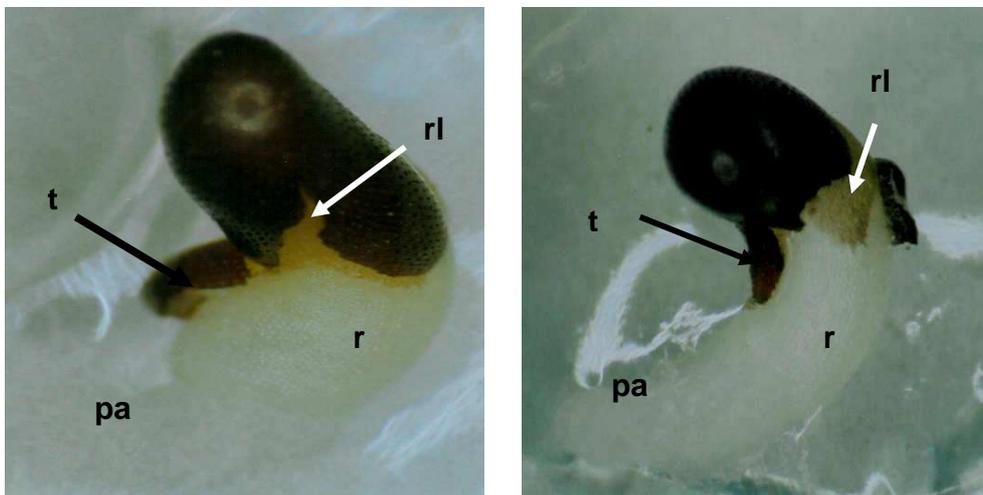


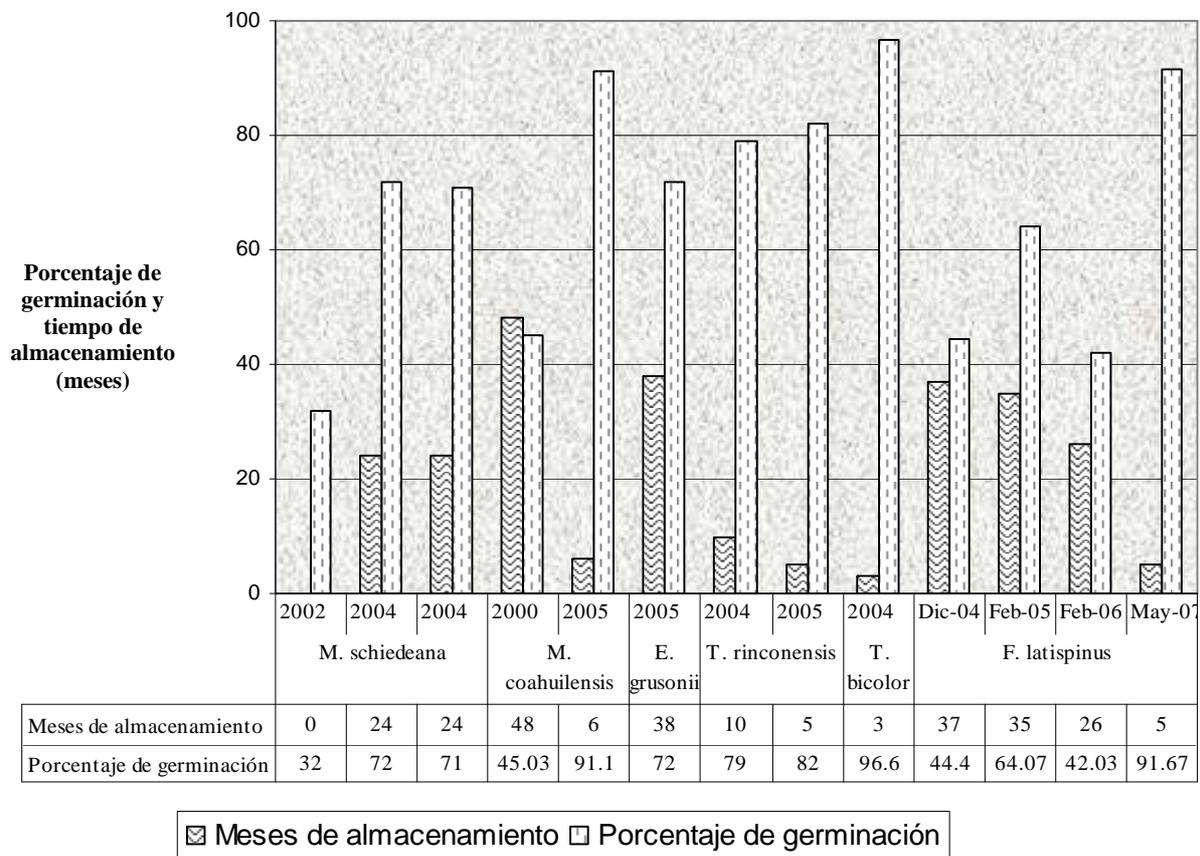
Figura 7. Vista superior de semilla de *Ferocactus latispinus* donde se aprecia el desprendimiento lateral de la testa (t), la ruptura longitudinal (rl); así como radícula con pelos absorbentes (pa) (40X)

DISCUSIÓN

1.- Germinación de otras especies de cactáceas bajo condiciones *in vitro*

Escasos son los trabajos que toman en cuenta el tiempo de almacenamiento de la semilla, o la pérdida de viabilidad de ésta a través del tiempo (longevidad), en *F. latispinus* se generan altos porcentajes de germinación en semillas con menor tiempo de almacenamiento, como ejemplo el lote 2007 que alcanza un 91.67% de germinación promedio, en semillas con un tiempo máximo de almacenamiento de cinco meses, por el contrario el lote 2004 con un tiempo de almacenamiento de 35 a 37 meses alcanzó un promedio bajo de 44,4%. Algunos reportes mencionan el periodo de almacenamiento de las semillas, y se puede apreciar un comportamiento similar; siendo el caso de Soria, (2006) quien reporta mayor porcentaje de semillas germinadas de *Mammillaria schideana* en lotes con menor tiempo de almacenamiento (lotes del 2004 con 76 y 71%) mientras que semillas colectadas en el 2002 arrojan un 32%; de igual manera semillas de *Mammillaria coahuilensis* generan porcentajes de 45.03% en semillas con cuatro años de almacenamiento, mientras con seis meses de almacenamiento se incrementa hasta en un 91.1% (Flores, 2007), Martínez, (2007) reporta un 72% en semillas de *Echinocactus grusonii* con tres años de almacenamiento y en *Thelocactus bicolor* Zamora, (2007) reporta un 96.6% en semillas con tres meses de almacenamiento. Lo mismo ocurre con semillas de *Thelocactus rinconensis* en donde las semillas con mayor tiempo de almacenamiento (313 días) genera un 79% y con 162 días un 82%.

Los datos anteriores se muestran representados en la gráfica 7; algunos de ellos fueron extrapolados como el de *M. schiedeana* cuyos lotes del 2004 se le asignaron los tiempos de almacenamiento tomando como referencia el lote 2002, este último posee un valor de cero, debido a que se desconoce el tiempo de almacenamiento.



Gráfica. 7 Representación ilustrada de lo porcentajes de germinación *in vitro* y días de almacenamiento en diferentes especies de cactáceas

Se observan ciertas similitudes y diferencias en el comportamiento germinativo de estas especies en relación con *F. latispinus*. Por ejemplo *M. schiedeana* genera un porcentaje de germinación de 71% en semillas con 24 meses de almacenamiento, que es superior a los datos generados en *F. latispinus*, en donde semillas con 23 y 26 meses de almacenamiento (siembras cuatro y cinco del lote 2006) obtienen un 33 y 38% de germinación, sin olvidar que en este lote se obtuvieron los menores porcentajes de germinación. Otra diferencia se observa en semillas de *Echinocactus grusonii* con 38 meses de almacenamiento y un porcentaje de 72% en su germinación, comparadas con semillas de 37 meses de almacenamiento y con un 52.2%, siendo menor la viabilidad para *F. latispinus*. Lo mismo ocurre con

simientes de *Thelocactus bicolor* que generan un porcentaje elevado (96.67%) con solo tres meses de almacenamiento; la especie utilizada, obtuvo un 92.2% de germinación con el mismo tiempo de almacenamiento existiendo una diferencia de 4.47%. En otros casos la diferencia quizá no sea muy acentuada, en *Thelocactus rinconensis* se alcanzó un alto porcentaje de germinación de 82%, mientras que *F. latispinus* genera 85.56% de germinación, ambos con el mismo tiempo de almacenamiento (cinco meses) siendo este último ligeramente superior. *Mammillaria coahuilensis* arroja un porcentaje de germinación alto (91%) con seis meses de almacenamiento, mientras tanto semillas de *F. latispinus* se muestran ligeramente bajas en sus porcentajes de germinación, habiendo una diferencia de 9.44% a pesar de ser un mes mas jóvenes.

Cabe destacar que los porcentajes de germinación suelen ser diferentes entre cada especie, los cuales se ven afectados por el tiempo de almacenamiento en diferente proporción. También es claro que para algunas especies entre menor es el tiempo de almacenamiento, mayor será el porcentaje de germinación (*F. latispinus*, *T. rinconensis* y *T. bicolor*) deduciendo que, después de ser dispersadas las simientes están listas para germinar cuando dispongan de condiciones adecuadas. Los datos que se muestran son escasos pero dan una buena idea de lo que ocurre con las semillas al ser cultivadas bajo condiciones *in vitro*.

Asimismo existen reportes sobre la germinación *in vitro* de cactáceas (Tabla 5), en donde se puede observar que los porcentajes de germinación suelen variar dependiendo de diferentes factores como: la especie utilizada, el tratamiento de las semillas (con o sin escarificación en H₂SO₄, además de la influencia del medio de cultivo utilizado: como ejemplos, se presentan casos como el de Santos *et al.* (2001) que alcanza el 85% de germinación en *A. myriostigma* utilizando MS 50%; Rosas, (2002) obtiene un 90% de germinación en medio MS 50% en semillas de *Polaskia chichipe*, y de forma contraria alcanza un porcentaje superior (88%) en medio Agua/Agar en comparación en MS 50% (84%) en semillas de *Echinocactus platyacanthus*. Tapia, (2006) obtiene elevados porcentajes de germinación (98%) en semillas de *Cephalocereus senilis* escarificadas y sembradas en medio MS

100% en comparación con semillas sin escarificar (70%); Mendoza (2007) obtiene porcentajes de germinación elevados para *Astrophytum ornatum* utilizando medio MS 50% (82.2%) mientras en los medio MS100% y agua/ agar alcanza 77.7 y 75.5% respectivamente. En estos ejemplos es posible observar que se obtienen diferentes porcentajes de germinación aún en una misma especie, al modificar el medio en el cual son sembrados o al escarificar, o no, a las semillas.

Así mismo se han agregado reguladores de crecimiento para estimular la germinación como lo reporta Cuéllar *et al.* (2006) que adiciona al medio MS 100% dos citocininas: Bencilaminopurina y Kinetina en una proporción (2:1 mg/l); arrojando porcentajes elevados de germinación en solo dos de cuatro especies ensayadas: *Hylocereus undatus* (84%), *Stenocereus griseus* (60%), *S. queretaroensis* (15.2) y *S. gummosus* (12.9%), los bajos porcentajes son atribuidos a la concentración y tipo de citocininas presentes en el medio, ya que pueden inhibir o inducir la germinación.

Loaiza, (2008) evaluó los porcentajes de germinación en semillas de *Echinocactus platyacanthus* en medio MS 50% utilizando diferentes agentes gelificantes con distintas concentraciones, obteniendo en Agar-Agar (99%), Gelrite (97.7%), siguiéndole Bioxon con (86.6%) y Difco Bacto (66.6%).

Como puede observarse los porcentajes de germinación elevados pueden ser atribuidos a factores como la especie y el medio de cultivo utilizado (concentración de sus componentes, tipo y/o concentración de hormonas y agentes gelificantes).

2.- Germinación de otras especies de cactáceas bajo condiciones *ex vitro*

Existen distintos reportes de algunas especies de *Ferocactus* cuyos porcentajes de germinación son elevados a pesar de tener considerables edades de almacenamiento, siendo el caso *Ferocactus emory* y *F. herrerae* con una edad de 10 años, los cuales alcanzan porcentajes de 80 y 90%, *Ferocactus histrix* arroja un 98% de germinación en semillas con dos años de almacenamiento, este resultado este es similar al lote 2007 observado en *F. latispinus* (91.67%); aún así *F. histrix* muestra una viabilidad superior, lo mismo ocurre *F. latispinus var spiralis* el cual despliega un porcentaje superior a 50% con 6 años de almacenamiento. Este dato

es mayor al registrado al lote 2004 de *F. latispinus* con tres años de almacenamiento, ya que solo obtuvo un 44.4 %.

Otras especies pueden mostrar el mismo comportamiento bajo condiciones *ex vitro*, ejemplo de ello es Rangel *et al.* (2004) donde observa que semillas de *Hechtia glomerata* (Familia *Bromeliaceae*) con dos años de almacenamiento desarrollan una menor velocidad germinativa, y aproximadamente la germinación disminuye en un 50%; y, determina que la edad de la semilla afecta en parte la capacidad de germinación.

Mammillaria magnimamma genera una mejor respuesta germinativa bajo diferentes tratamientos (testigo, oscuridad, incubados a 15 y 25°C, a 90°C por 4 y 12 hrs, con un pH de 0.7 y 1.7) en semillas de un mes de edad (80.01% promedio) que aquellas que poseen un año (75.81% promedio) (Ruedas *et al.*, 2000). Aguilar y Mandujano (2004) evaluaron factores como la edad, el peso y el origen de la semilla de *Opuntia rastrera*, concluyendo que el porcentaje de germinación aumenta con el peso de las semillas, estas no difieren de forma significativa de acuerdo a su origen, además observan uniformidad en la respuesta germinativa en semillas de cuatro a cinco años, sin embargo semillas de dos y de seis a doce años, muestran una mayor varianza en sus porcentajes de germinación (mayor porcentaje de germinación). También hacen énfasis en que **“dado que el peso esta positivamente relacionado con la germinación, son las condiciones las que favorecen el aumento del tamaño en la semilla como los años de lluvia a nivel general y la calidad de los padres, en particular las que determinan la germinación”**. Ayala-Cordero *et al.* (2004) clasificó semillas de *Stenocereus beneckeii* en cinco categorías de peso (Tabla 4), obteniendo resultados similares al trabajo anterior, ya que semillas de más de 10.9 mg superan el 70% de germinación y el mayor porcentaje lo alcanza la categoría intermedia (10.9-13.2 mg) con 80% de germinación. Estos datos podrían sugerir que el peso y tamaño de las semillas están relacionados de forma positiva con su viabilidad.

Otras especies donde se mencionan elevados porcentajes de germinación son: *Eulychnia castanea* con cuatro años de almacenamiento y un porcentaje de germinación superior a 90. Para la especie en estudio se observaron porcentajes

de germinación que fluctuaron entre el 16.67% y 42.2% del lote del 2006, esta fluctuación en los porcentajes de germinación se reporta en semillas de *Carnegiea gigantea* de 10 años de edad con el 4 al 5 % de germinación (Alcorn y Matin, 1974. citado por Rojas- Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000).

Aunque no se puede hacer mayor comparación, ya que en estos reportes se desconocen la cantidad de semillas ocupadas para verificar la viabilidad del lote, así como si las simientes estuvieron bajo condiciones de almacenamiento específicas o si recibieron algún tipo de tratamiento previo como luz, temperatura, escarificación.

Varios pueden ser los factores que modulan la respuesta germinativa en la semilla y por supuesto de la viabilidad (si la germinación se toma como un reflejo de esta). Algunas características propias de la semilla podrían influir en la conservación de la viabilidad tales como: tamaño, peso, grosor de la testa y por supuesto la edad de la semilla. Otro de los factores que intervienen son los ambientales: humedad, calidades de luz, temperatura, acidez del suelo, los cuales serán distintos de acuerdo al sitio de procedencia.

Vázquez-Yanes y Rodríguez (1995) mencionan que algunas de las características de la vida de las plantas relacionadas a la longevidad son: “número de eventos reproductivos por individuo de la especie, características climáticas del habitat, mecanismos de dispersión y separación en el espacio y/o tiempo de sitios adecuados para el establecimiento de nuevos individuos.”

3.- Germinación *in vitro*

Se encontró que al emerger la radícula semillas de *Ferocactus latispinus* provoca una ruptura alrededor del área micropilar, evento que también ocurre en *Ferocactus histrix* Del Castillo, (1986), en *F. latispinus* la emergencia de la radícula genera una fractura alrededor del área hilo-micropilar.

Bregman y Bouman (1983), analizaron la germinación de 89 géneros representativos de la familia Cactaceae y determinaron 11 tipos, ocho de las cuales carecen de opérculo. Para *Ferocactus gracilis* reportan dos variantes, una

que puede ser considerada como un precursor real del opérculo (variante *Echinomastus*) en la cual aparece una ruptura lateral que llega a la mitad de la semilla; y el embrión emerge a través de una ruptura dorsal; la otra variante (variante *Cereus*) involucra un opérculo como tal, donde el embrión sólo lo empuja hacia un lado. El grupo *Ferocactinae* según Buxbaum presenta dos variantes extras, en las cuales aparece una ruptura dorsal después de la imbibición de la semilla. En especies sin opérculo, la ruptura dorsal continúa a través de la zona hilo-micropilar.

En las descripciones anteriores se menciona una ruptura lateral en la variante *Echinomastus*; *Ferocactus latispinus* presenta tal evento.

4.- Velocidad de germinación

Hablando de velocidad de germinación de algunas especies de cactáceas y bajo condiciones *in vitro* el inicio y la velocidad de germinación es distinta dependiendo de la especie y medio de cultivo utilizado. En *F. latispinus* la germinación inicia los días cuatro a cinco. En el caso de *Astrophytum ornatum* esta inicia al segundo día de incubación en medio Agua/agar y en MS50%; al cuarto día en MS100%. Sin embargo después de los 30 días el porcentaje más alto se presenta en MS50% con 82.2%, MS100% con 72.7% y Agua/agar con 75.5% (Mendoza, 2007).

Para el caso de *Echinocactus grusonii* la germinación es un tanto más lenta, inicia hasta el sexto día en MS50% y Agua/Agar, en medio MS100% se presenta hasta el noveno día. El máximo se alcanza a los 19 días con 95, 94 y 74% para Agua/agar, MS50% y MS 100%. Por lo que el periodo de tiempo para alcanzar el máximo es corto y eficiente en comparación con semillas de *F. latispinus*.

En cuanto a *Cephalocereus senilis* el inicio de la germinación se da a los 15 días en semillas sin escarificar (2%) y 20 en semillas escarificadas (32%); después de 45 días obtuvo un 98% de germinación en semillas no escarificadas y 70% en escarificadas esto se observó en medio MS, por lo que la escarificación acelera el inicio de la germinación, pero disminuye el porcentaje final, quizás debido a que se producen daños al embrión (Tapia, 2006).

Bajo condiciones *ex vitro* Del Castillo (1986) reporta que la germinación de *Ferocactus histrix*, en la mayoría de las semillas germinaron entre cuarto y sexto día después de haber sido humedecidas, siendo los días: cuarto, quinto y sexto con mayores tasas de germinación. Estos tienden a ser similares a los presentados en los lotes 2007 y 2005 de *F. latispinus*.

5.- Condiciones ambientales de la planta madre como posibles moduladores en el porcentaje de germinación o viabilidad de semillas

Como se ha mencionado las condiciones ambientales suelen influir en el porcentaje de germinación y estas difieren de un sitio a otro. Las colectas de semillas en el presente trabajo se realizaron en el mismo sitio, sin embargo, se encontró un bajo porcentaje en semillas del lote 2006, la tabla 7 muestra las fechas de colecta y posibles datos sobre la fenología de *Ferocactus latispinus*. Para el periodo de fructificación se propone tomando en cuenta los meses de noviembre-abril, consecuentes del periodo de floración, cabe destacar, que también se observó para otra población ubicada en el municipio de Tasquillo, Hidalgo la etapa de floración que inicia en febrero y culmina en mayo aproximadamente.

Tabla 7. Fechas de colecta, y posible fenología de *F. latispinus*.

COLECTA DE FRUTOS												
	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
2004												X
2005		X										
2006		X										
2007					X							
Floración					X	X	X	X	X	X		
Fructificación	X	X	X	X							X	X

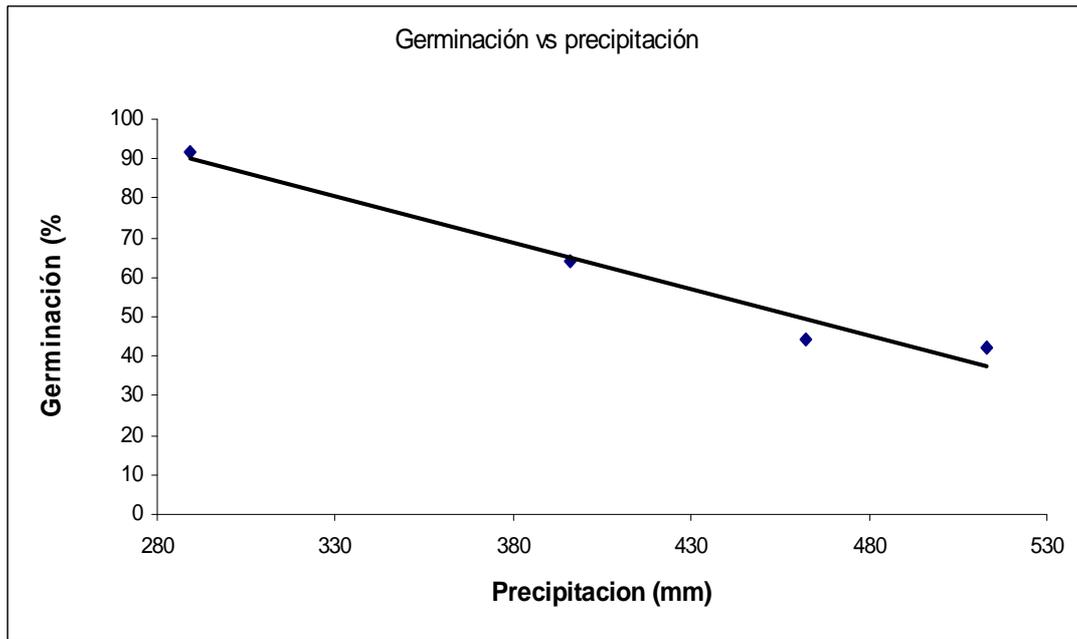
Para tratar de dar una explicación con relación a los diferentes porcentajes de germinación de los distintos lotes, se recopilaron los datos de precipitación pluvial mensual expresados en mm y de temperaturas máximas y mínimas de la Presa “El Girón” (Tabla 8) sitio donde se encuentra la estación meteorológica más cercana al lugar de colecta. La estación se ubica a una latitud de 20°3’52’’ y a una longitud de 98°39’06’’.

Tabla 8. Tabla de precipitación mensual de los años 2004 a 2007, estación meteorológica Presa El Girón. N.D: datos no disponibles

Año	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	ANU-AL
2004	10.8	0.0	20.3	107.5	102.9	66.7	35.5	41.5	29.3	42.1	0.0	5.5	462.1
2005	4.2	9.8	19.0	13.5	4.5	21.0	35.5	97.3	35.7	154.5	1.0	0.0	396.0
2006	1.5	0.0	55.1	29.8	79.3	36.0	84.4	116.0	40.3	61.7	9.2	0.0	513.3
2007	24.6	47.3	17.5	59.0	80.5	60.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	289.0

Tomando los datos de precipitación anual y confrontándolos con los porcentajes de germinación promedio de cada lote (Gráfica 8), podría decirse que una mayor precipitación afecta de forma negativa los porcentajes de germinación, ya que al incrementar la precipitación anual, como en el caso del año 2004 y 2006, con 462.1 mm y 513.0 mm es en donde se reflejaron los porcentajes de germinación

menores de 44.4 y 42.03% respectivamente y en los años de 2005 y aunque no están completos los datos del 2007, se puede observar que la precipitación media anual fue de 396 mm para el 2005 y se obtuvo el 64.07% de germinación y el 2007 con 289 mm de precipitación anual el 91.67%; corroborando que las condiciones ambientales a las que son sometidas la planta madre pueden afectar en la

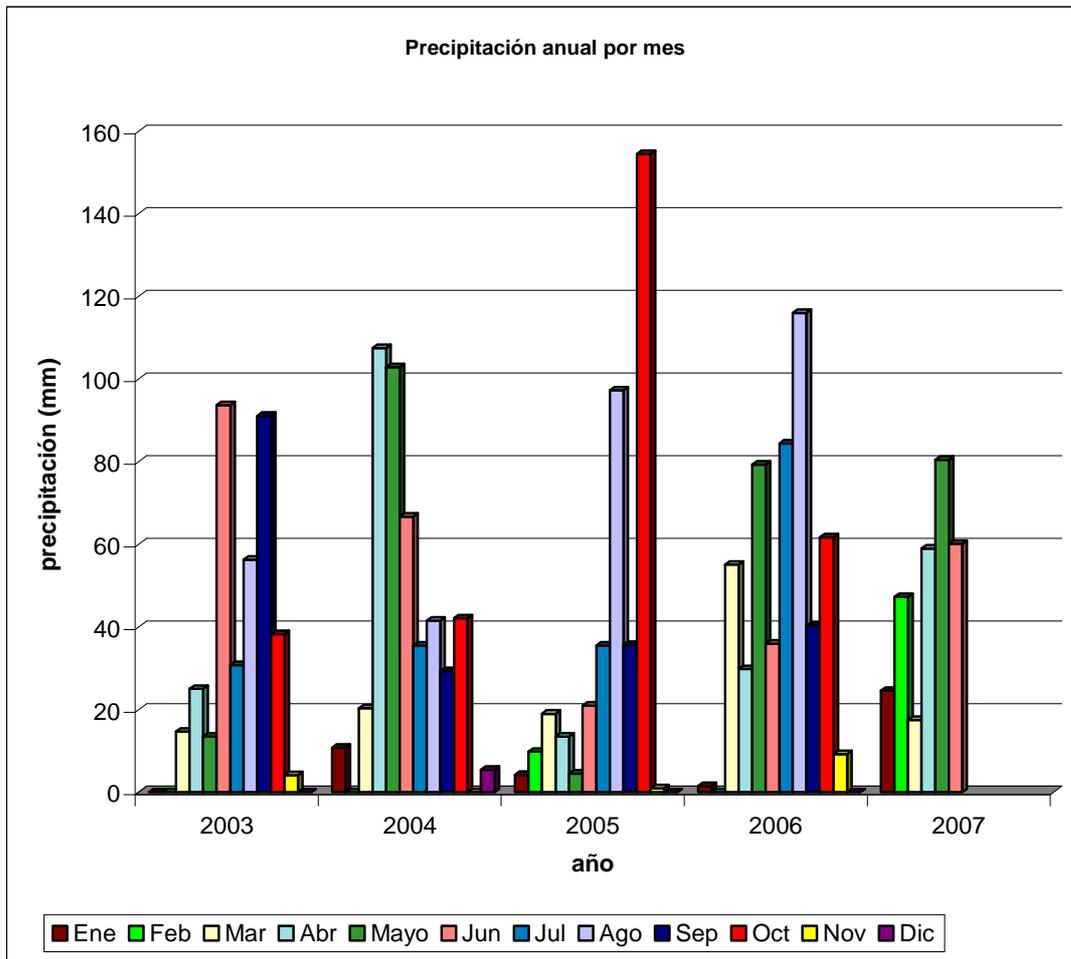


Gráfica 8. Línea de tendencia producida por porcentaje de germinación (%G) y precipitación media anual.

viabilidad, en este caso el porcentaje de germinación, de las semillas. Sin embargo, no hay que olvidar, que aquí no se está considerando el tiempo de almacenamiento de las semillas, modificando probablemente los resultados.

Al analizar los datos de precipitación mensual (Gráfica 9) y considerando las fechas de colecta así como la fenología de la planta es posible señalar lo siguiente: que la precipitación puede ser un factor que influya durante la etapa de floración (mayo a octubre). Por tanto puede sugerirse que la planta madre y por tanto, los frutos colectados en el mes de Febrero del 2006 (lote 2006), estuvieron expuestos a las condiciones ambientales del año 2005, siendo influenciadas por

un aumento drástico en la precipitación en el año 2005, que ocurrió en los meses de Mayo a Octubre, que son los meses en que se presenta la floración.



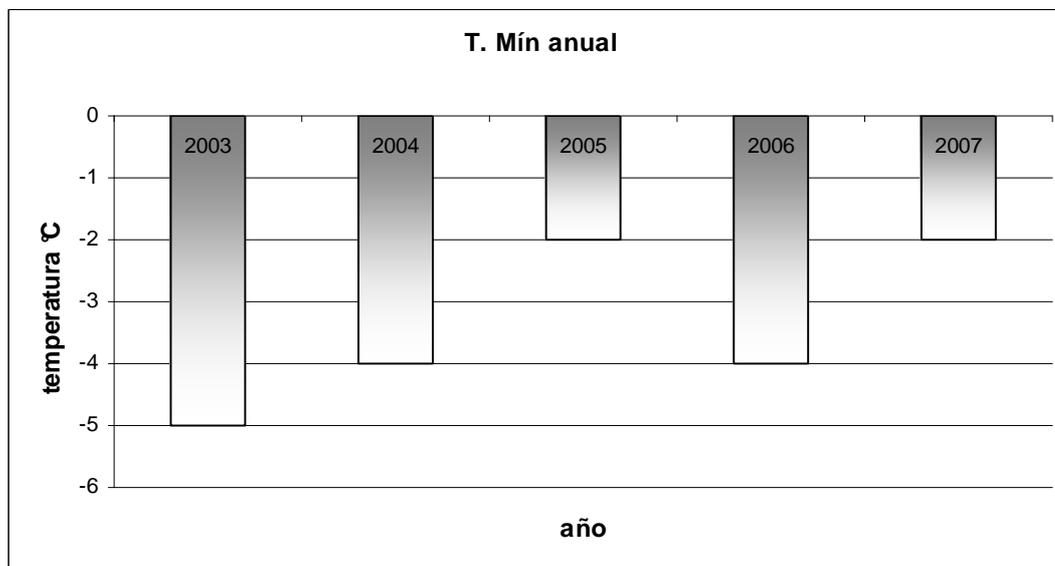
Gráfica 9. Precipitación mensual de los años 2003 a 2007, estación meteorológica el girón.

Si el periodo de floración es correcto, se observa que a su inicio la precipitación es inferior a los 10 mm, y al cierre de esta supera los 150 mm, quizá afectando la cantidad de polinizadores, teniendo efectos negativos como la disminución en el porcentaje final de germinación, y provocando fluctuaciones en los porcentajes de germinación, durante cada siembra. También se observa que en los años 2004 y

2006 la precipitación no incrementa de forma abrupta, por el contrario, es elevada al inicio de la época de floración y disminuye al concluir esta.

Solo existen reportes donde se menciona que las condiciones ambientales influyen en la fenología de la planta; Cruz (2008) reporta que para el caso de *Stenocereus dumortieri* la fructificación muestra una relación negativa con la humedad del suelo, es decir, que a mayor disponibilidad de agua para la planta, la fructificación disminuye. También sugiere “Las cactáceas tienen un potencial hídrico mayor al inicio de la época reproductiva durante la época seca, cuando el almacén de agua de la planta disminuye, aumentando la asignación de recursos a la reproducción y con esto a un mayor número de estructuras reproductivas” Por otra parte Petit (2001) encontró que la lluvia tiene distintos efectos en la producción de yemas florales en tres especies de cactus columnares, donde cada una responde de manera diferente. *Pilosocereus lanuginosus* comienza a producir yemas florales inmediatamente después de la lluvia, en tanto que *Stenocereus griseus* responde de forma negativa con el aborto o cese de la producción de yemas. La lluvia parece ser un factor abiótico que puede modular la fenología de la planta, lo que se desconoce es que si estas variables ambientales afectan de manera indirecta a otro eslabón del gran entramado de interacciones, en este caso la germinación y/o viabilidad de las semillas.

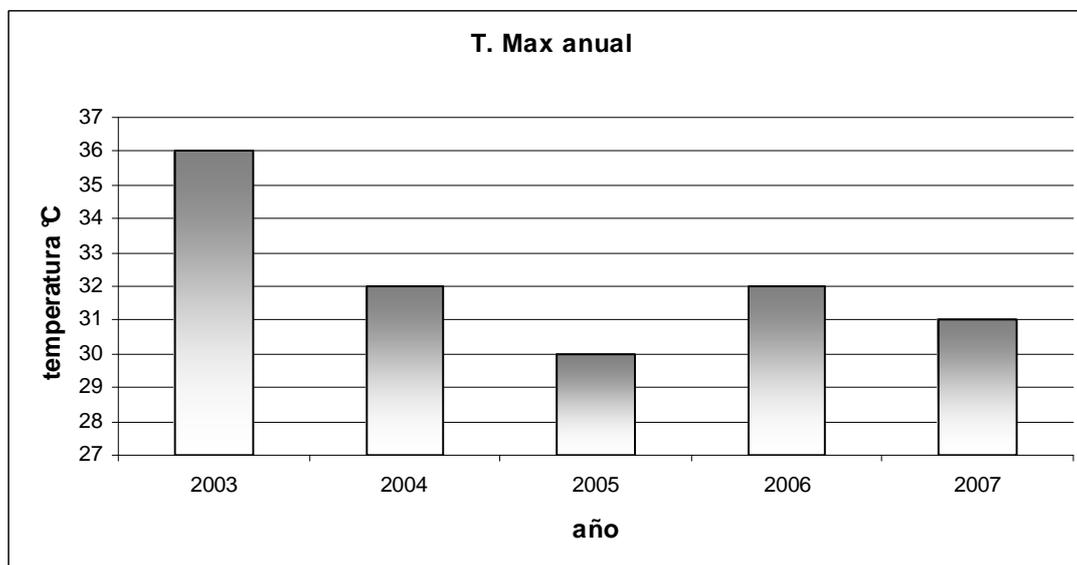
Otro factor abiótico es la temperatura, principalmente la máxima y la mínima anuales. Se sugiere que estas también estén interviniendo en los porcentajes de germinación. Retomando de nuevo los datos sobre las fechas de colecta, los porcentajes de geminación final, y la fenología se propone lo siguiente: para el caso de la temperatura mínima anual (Gráfica 10) es probable que esta afectaría a la etapa de fructificación, ya que en los años 2004 y 2006 alcanzó una temperatura mínima de -4°C en los meses de Noviembre y Diciembre, por lo tanto los frutos estuvieron expuestos ante tales condiciones, y probablemente sea un factor más por lo cual se obtuvieron porcentajes similares de 44% para el lote 2004 con 35-37 meses de almacenamiento y 42% para el lote 2006 con 14 a 26 meses de almacenamiento.



Gráfica 10. Temperatura mínima anual de los años 2003 a 2007, estación meteorológica El Girón.

En cambio aquellos frutos con semillas expuestas a -2°C generaron porcentajes de germinación elevados de 64% (lote 2005) con 33 - 35 meses de almacenamiento y de 91% (lote 2007) con un máximo de cinco meses de almacenamiento. Cabe destacar, que solo hay una diferencia de temperatura de solo dos grados centígrados, por lo que tal evidencia no sería tan confiable, ya que en otros trabajos dejan intervalos de al menos cinco grados centígrados.

Para el caso de las temperaturas máximas de 32°C (Gráfica 11) podrían estar relacionadas con los porcentajes de germinación de 44% y 42% de los lotes 2004 y 2006. Hasta ahora se desconoce si esta variable ambiental influye de manera significativa, incluso no se hace mención específica de la temperatura en otros trabajos sobre su posible intervención.



Gráfica 11. Temperatura máxima anual de los años 2003 a 2007, estación meteorológica El Girón

Otras posibles explicaciones de los bajos porcentajes de germinación es que: la viabilidad ha disminuido o que las semillas entraron a un estado de latencia profunda, también puede manejarse que existen años buenos y malos en la producción de frutos, tal variación está relacionada a las condiciones ambientales que favorecen la productividad fotosintética y a factores bióticos como: la abundancia de polinizadores o consumidores de flores y frutos (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997).

Parece ser que las semillas de cactáceas si pueden ser almacenadas por un periodo moderado, algunas, conservan una viabilidad elevada durante años, quizá las condiciones de almacenamiento podrían aumentar la longevidad y por tanto, la viabilidad de las semillas por un periodo de tiempo prolongado, Hernández-Aguilar y Collazo-Ortega (2007) mencionan que la mayoría de las semillas de cactáceas permanecen viables entre los cinco y diez años almacenadas con un contenido de humedad menor al 15% a temperaturas de 20 a 25°C y con una humedad relativa

atmosférica del 80%, estos aspectos, así como los tratamientos pre-germinativos podrían ayudar a mejorar el aprovechamiento de las semillas dentro del proceso de la micropropagación, así como también contemplándolas en creación de bancos de germoplasma; contribuyendo así, a mantener cierta variabilidad genética en las especies. Aunque bajo condiciones naturales las semillas de cactáceas pueden alcanzar una viabilidad elevada, se encuentran sometidas a presiones como depredación, destrucción del hábitat, sobrecolecta, condiciones climáticas inconvenientes para la germinación, entre otras, que disminuyen el número de semillas disponibles viables presentes en el suelo y de estas, dependerá la prevaencia de la especie durante el tiempo.

VII.- Conclusiones

- Las semillas de *Ferocactus latispinus* presentan una testa permeable por lo que no requieren de escarificación y poseen un mayor potencial germinativo después de ser colectadas. Se observó que durante cinco meses después de ser colectadas y almacenadas las semillas de *F. latispinus* mantienen elevados porcentajes de germinación (91.67%), lo mismo ocurre con semillas de 33 a 35 meses de almacenamiento con un 64.07%.
- Fue evidente que el porcentaje de germinación es afectado por el tiempo de almacenamiento de las semillas, debido a que se observaron diferentes porcentajes de germinación.
- Las semillas del lote 2006 que presentaron el porcentaje de germinación más bajo probablemente entraron en un estado de latencia o las condiciones ambientales de la planta madre no fueron las adecuadas durante la formación de las semillas.
- La germinación de semillas pequeñas y con testa permeable puede ser un buen indicador de viabilidad, en este caso con *F. latispinus*.
- Semillas con menor tiempo de almacenamiento de cinco a 35 meses, (lotes 2007 y 2005) germinan con mayor rapidez entre el cuarto y quinto día, que aquellas con mayor tiempo de almacenamiento (lote 2004) con entre 35 a 37 meses de almacenamiento que germinan entre el sexto y séptimo día.
- Las semillas de cactáceas poseen una longevidad potencial elevada, sin embargo bajo condiciones naturales (longevidad ecológica) disminuye ya que entran en juego factores ambientales determinantes en la promoción de la germinación.
- Se recomienda que en los trabajos de cultivo de tejidos vegetales, sea considerado el tiempo o condiciones de almacenamiento de las semillas.
- El presente trabajo abre un panorama para la realización de experimentos sobre la disminución de la viabilidad a través del tiempo en semillas sembradas bajo condiciones *in vitro*.

- Quizá factores como las condiciones ambientales en las que estuvo la planta madre podrían afectar de forma indirecta en el porcentaje de germinación y/o en la viabilidad de las semillas.

VIII.- Bibliografía:

Abraham de Noir, F., Bravo, S. y Abdala, R. 2002. **Mecanismos de dispersión en algunas especies de leñosas nativas del Chaco Occidental y Serrano.** Quebracho. Revista de Ciencias Forestales 9: 140-150.

Aguilar, G. y Mandujano, S. 2004. **El peso, la edad, y el origen de la semilla en el potencial germinativo de *Opuntia rastrera* Weber en condiciones controladas.** En: Hernández, M., Cházaro, M. Y Vázquez, J. (Eds). **Resúmenes del IV congreso mexicano III Latinoamericano y el Caribe de cactáceas y otras suculentas.** Del 3 al 9 de Mayo. Guadalajara. México. Pag. 228.

Álvarez, R., Godínez-Álvarez, H., Guzmán, U. y Dávila, P. 2004. **Aspectos ecológicos de dos cactáceas mexicanas amenazadas: Implicaciones para su conservación.** Boletín de la Sociedad Botánica de México 75: 7-16.

Álvarez, M y Montaña, C. 1997. **Germinación y supervivencia de cinco especies de cactáceas del Valle de Tehuacán: implicaciones para su conservación.** Acta Botánica Mexicana 40: 43-58.

Arredondo, A y Camacho, F. 1995. **Germinación de *Astrophytum myriostigma* (Lemaire) en relación con la procedencia de las semillas y la temperatura de incubación.** Cactáceas y Suculentas Mexicanas 40: 35-38.

Ayala-Cordero, G., Terrazas, T. López-Mata, L y Trejo, C. 2004. **Variación en el tamaño y peso de la semilla y su relación con la germinación en una población de *Stenocereus beneckeii*.** Interciencia 29: 692-697.

Barcenas, R. 2003. **Los cactus del desierto Chihuahuense en México.** En: Robbins, C. 2003. **Comercio espinoso. Comercio y conservación de cactus en**

el Desierto Chihuahense. Traffic Norteamérica. Fondo Mundial para la Naturaleza. Washington DC. 1-63.

Baskin, C. C. y Baskin, J. M. 2001. **Seeds : ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination.** Academic Press. Estados Unidos. 607 pp.

Benitez, H. Y Dávila, P. 2002. **Las cactáceas mexicanas en el contexto de la CITES.** Biodivesitas. 40: 8 - 11.

Benítez-Rodríguez, J., Orozco-Segovia, A y Rojas-Aréchiga, M. 2004. **Light effect on seed germination of four *Mammillaria* species from the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Central Mexico.** The Southwestern Naturalist 49: 11- 17.

Bewley, J. y Black, M.1985. **Seeds: physiology of development and germination.** Plenum Press. Nueva York. 326 pp.

Bowers, J. 2000. **Does *Ferocactus wislizeni* (Cactaceae) have a between-year seed bank?** Journal of Arid Environments 45. 197 – 205.

Bravo-Hollis, H. 1978. **Consideraciones acerca de la clasificación, morfología y distribución de las cactáceas.** Cactáceas y Suculentas Mexicanas 23: 19-21.

Bravo-Hollis, H. y Scheinvar, L. 1999. **El interesante mundo de las cactáceas.** Fondo de Cultura Económica, México. 233.

Bregman, R. 1988. **Forms of seed dispersal in Cactaceae.** Acta Botánica Neerlandesa 37: 395 - 402.

Bregman, R. y Bouman, F. 1983. **Seed germination in Cactaceae.** Botanical Journal of the Linnean Society 86: 357-374.

Camacho, F. 1994. **Dormición de semillas: causas y tratamientos**. Trillas. México D.F. 125pp.

Cordero, C. 1976. **Fisiología vegetal**. Blume. 425 pp.

Cota, J. H. 1985. **Morfología y pruebas de viabilidad con sales de tetrazolio en semillas de *Ferocactus latispinus* (Haw.) Britton and Rose**. Cactáceas y Suculentas Mexicanas 30: 51- 55.

Crawley, M. 1997. **Plant ecology**. Second edition. Blackwell Publishing. Reino unido. 632 p.

Cruz, P. 2008. **Fenología reproductiva de *Isolatocereus dumortieri* (Scheidw.) Backeb. (Cactaceae) y su relación con variables hídricas en la reserva de la Biosfera Barranca de Metztitlán**. Tesis de Licenciatura. Biólogo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 26 p.

Cuellar, L., Morales, M y Treviño, J. 2006. **La germinación *in vitro*, una alternativa para obtener explantes en cactáceas**. Zonas Áridas 10: 129-133.

Del Castillo, R. 1982. **Estudio ecológico de *Ferocactus histrix* (DC.) Lindsay**. Tesis de Licenciatura. Biólogo. Universidad Nacional Autónoma de México. 228p.

Del Castillo, R. F. 1986. **Semillas, germinación y establecimiento de *Ferocactus histrix***. Cactáceas y Suculentas Mexicanas 31: 5-11.

Díaz, B. 2007. **Propagación *in vitro* de *Thelocactus rinconensis* (Poselger) Britton y Rose (Cactaceae) especie endémica amenazada**. Tesis de Licenciatura, Biólogo. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 52 p.

Eguiarte, L. 2006. **¿Que es un *Ferocactus*?** Cactáceas y Suculentas Mexicanas 51: 25-29.

Engleman, E. 1960. **Ovule and seed development in certain cacti.** American Journal of Botany 47(6): 460-467.

Fahn, A. 1974. **Anatomia vegetal.** Blume Ediciones. Madrid. 616 pp.

Fay, M. 1994. **In what situations is *in vitro* culture appropriate to plant conservation?** Biodiversity and Conservation. 3: 176-183.

Hartmann, H., Kester, D. Davies, F. y Genere, R. 2002. **Propagation principles and practices.** Prentice Hall. Estados Unidos.

Hernández, H. M. y A. H. Godínez. 1994. **Contribución al conocimiento de las cactáceas mexicanas amenazadas.** Acta Botánica Mexicana 26: 33-52.

Hernández-Aguilar, A. y Collazo-Ortega, M. 2007. **Respuesta germinativa a la luz y temperatura de plantas de *Astrophytum myriostigma* Lemaire (Cacataceae) mantenidas en invernadero** Cactáceas y Suculentas Mexicanas 52: 109 – 121.

Kolotelo, D., Van Stennis, E., Peterson, M., Bennet, R., Trotter, D y Dennon, J. 2001. **Seed handling guidebook.** British Columbia, Canadá. 85 pp.

Loaiza, C. 2008. **Análisis fisiológico del efecto de tres marcas de agar y Gelrite en la germinación y desarrollo *in vitro* de plántulas de *Echinocactus platyacanthus* Link et Otto (Cactaceae).** Tesis de Licenciatura, Biologo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 55p.

López, C y Gozález, I. **A propósito de las semillas**. [En línea]. España. [Citado 4/10/08]. Formato html. Disponible en Internet: <http://www.ciencias.uma.es/publicaciones/encuentros/ENCUENTROS33/semilla33.html>

Martinez, A. 2007. **Evaluación fisiológica de brotes regenerados *in vitro* de *Echinocactus grusonii* Hildmann (Cactaceae), especie amenazada de extinción**. Tesis de Licenciatura, Biologo. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 68 p.

McDonough, W. 1964. **Germination responses of *Carnegiea gigantea* y *Lemaireocereus thurberi***. Ecology 45:155-159.

McIntosh, M. 2002. Flowering phenology and reproductive output in two sister species of *Ferocactus* (Cactaceae). Plant Ecology 159: 1-13.

Moreno, P. 1996. **Vida y obra de granos y semillas**. Ed. Fondo de cultura económica. México. <http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx>

Mendoza, G. 2007. **Propagación *in vitro* de *astrophytum ornatum* (De Candolle) Weber (Cactaceae)**. Especie amenazada de extinción. Tesis de licenciatura, Biología. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 70 p.

Petit, S. 2001. **The reproductive phenology of three sympatric species of columnar cactus on Curaçao**. Journal of Arid Environments 49: 521-531.

Rangel, A., Treviño, J y Morales, M. **Comparación de poder germinativo de *Hechita glomerata* en semillas de año y dos años de almacenamiento**. En: Hernández, M., Cházaro, M. Y Vázquez, J. (Eds). **Resúmenes del IV congreso mexicano III Latinoamericano y el Caribe de cactáceas y otras suculentas**. Del 3 al 9 de Mayo. Guadalajara. México. Pag. 227.

Roberts, E. 1972. **Viability of seeds**. Chapman and Hall Ltd. London, England. 448 p.

Rock, D y Zeevaart, J. 2000. Acido Abscísico. En: Azcon-Bieto, J. y Talon, M (Eds). **Fisiología y Bioquímica Vegetal**. Interamericana. McGraw Hill. México. 553 p.

Rojas-Aréchiga, M y Vázquez-Yanez, C. 2000. **Cactus seed germination: a review**. Journal of Arid Environments 44: 85 – 104.

Rojas-Aréchiga, M. y Batis, I. 2001. **Las semillas de cactáceas... ¿forman bancos en el suelo?** Cactáceas y Suculentas Mexicanas 46: 76 – 81.

Rosas-López, U. 2002. **Anatomía fisiológica de plántulas de cactáceas bajo estrés hídrico**. Tesis de licenciatura, Biólogo. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 73 p.

Ruedas, M., Valverde, T y Castillo, S.2000. **Respuesta germinativa y crecimiento de plántulas de *Mammillaria magnimamma* (Cactaceae) bajo diferentes condiciones ambientales**. Boletín de la Sociedad Botánica de México 66: 25-35.

Sánchez, G. 1997. **Germinación, viabilidad y características distintivas de la semilla de *Opuntia joconostle* Weber, forma Cuaresmero**. Cactáceas y Suculentas Mexicanas 52: 17-21.

Santos, M., Del Campo, S., Arredondo, A y Santos, M. 2001. **Efecto del medio de cultivo, cinética y agentes osmóticos sobre la respuesta morfogénica de *Astrophytum myriostigma* (Cactaceae) *in vitro***. Rev. Fitotec. Mex. 24: 133-138.

SEMARNAT. 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001. **Protección Ambiental-Especies nativas de México de Flora y Fauna Silvestre-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambios-Lista de especies en riesgo.** Diario Oficial de la Federación. México. 1-85pp.

Shishkova, S., Moreno, M. Castolillo-Díaz, V. Arellano, J y Dubrovsky, J. 2006. **Variabilidad genotípica de cactáceas con crecimiento determinado de la raíz en la regeneración de raíces a partir de callos.** Zonas Áridas 10: 41-58.

Soria, D. 2006. **Establecimiento y propagación *in vitro* de *Mammillaria schiedeana* Erenbergh subsp. *Schiedeana* (Cactaceae), especie amenazada de extinción de la Barranca de Metztlán, Hidalgo.** Tesis de licenciatura, Biología. Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Zona Orizaba-Córdoba, Veracruz. 110 p.

Sosa, C. 1997. **Mirmecofilia, interacciones entre hormigas y plantas.** Ciencia hoy. 40. Página en red: <http://www.cienciahoy.org.ar/hoy40/horm1.htm>

Taiz, L. y Zeiger, T. 2002. **Plant Physiology** (3ra ed.). Sinauer Associates, Inc. Massachusetts, Estados Unidos. 656 p.

Tapia, D. 2006. **Propagación *in vitro* de *Cephalocereus senilis* (Haw.) Pfeiff (Cactaceae). Especie amenazada de extinción.** Tesis de Licenciatura, Biología. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 73 p.

Vázquez-Yanes, C. y Rodríguez, M. 1995. **Bancos de semillas: relación entre hábitat de origen y longevidad potencial en el almacenamiento.** En: Linares, E., Dávila, P., Chiang, F., Bye, R. y Elias, T. (Eds.). **Conservación de plantas en peligro de extinción: diferentes enfoques.** UNAM. México. pp. 117-121.

Vázquez-Yanes, C., A. Orozco-Segovia., Rojas-Aréchiga, M., Sánchez, M y Cervantes, V. 1997. **La reproducción de plantas: semillas y meristemos**. Ed. Fondo de Cultura Económica. México. Página en red: <http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/157/htm/lcpt157.htm>.

Vega-Villasante, F., Nolasco, H. Montaña, C. Romero-Schmidt, H y Vega-Villasante, E. 1996. **Efecto de la temperatura, acidez, iluminación, salinidad, irradiación solar y humedad sobre la germinación de semillas de *Pachycereus pecten-aboriginum* “cardón barbón” (Cactaceae)**. Cactáceas y Suculentas Mexicanas 41: 51-61.

Zamora, H. 2007. **Micropropagación de *Thelocactus bicolor* (Galeotti ex Pfeiff.) Britton & Rose (Cacataceae)**. Tesis de Licenciatura, Biólogo. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 30 p.

ANEXO I

Ferocactus latispinus (Haworth) Britton *et* Rose, Cactaceae.

Es una planta simple de tallo globoso, más o menos aplanado, hasta 30 cm de altura y 4 dm de diámetro. Costillas alrededor de 21, agudas, algo tuberculadas, con una protuberancia arriba de cada aréola. Las aréolas son grandes, con la porción espinífera oval de unos 15 mm de longitud y 12 mm de anchura y la porción floral no



limitada. Posee de 12 a 15 espinas radiales de apariencia aplanadas, otras redondeadas, las mayorías anilladas, rectas o algo curvas, radiadas, rojizas o amarillas. Las espinas centrales son cuatro, rojizas o amarillas, las tres superiores aplanadas, anuladas, rectas, de 4 cm de longitud y 4 mm de anchura, ascendentes, la espina central inferior es más larga de 5 cm de longitud y 9 mm de anchura, anulada con la punta curva o ganchuda. Las flores son infundibuliformes, purpúreas o amarillas, hasta de 4 cm de longitud y de diámetro; las escamas del pericarpelo son muy numerosas e imbricadas, de 3 mm de anchura, acuminadas, esclerosas, ciliadas, en transición con las escamas del tubo receptacular y los segmentos exteriores del perianto; escamas del tubo carnosas, apiculadas, ciliadas en la porción basal y aquí, de 5 mm de longitud; segmentos exteriores del perianto lanceolados, de 18 mm de longitud y 4 mm de ancho, engrosados en la base, con la punta ciliado-fimbriada; segmentos interiores del perianto lanceolados, de 16 mm de longitud y 3 mm de anchura, con el margen entero y ápice mucronato; filamentos numerosos, de 3 a 10 mm de longitud; anteras pequeñas, estilo de 25 mm de longitud; lóbulos del estigma 16 (desiguales). El

fruto es ovoide, de 2.5 cm de longitud y 1.75 de diámetro, cubierto por escamas, conservando los restos secos del perianto; pulpa púrpura, carnosas. Las semillas son largamente reniformes, de 1.5 mm de longitud 1mm de diámetro; testa de color castaño oscuro.

Se ubica en los estados del altiplano: Aguascalientes, Distrito Federal, Guanajuato, Hidalgo México, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí y Zacatecas (Bravo-Hollis y Sánchez- Mejorada, 1991).

Anexo II. Formulación del medio de cultivo

Murashige y Skoog (1962)

Macronutrientos	MS100% g/L⁻¹	MS50% g/L⁻¹
NH ₄ NO ₃	1.65	0.825
KNO ₃	1.90	0.95
MgSO ₄ *7 H ₂ O	0.37	0.185
KH ₂ PO ₄	0.017	0.085
CaCl ₂ *2 H ₂ O	0.44	0.22
Micronutrientos		
KI	0.00083	0.000415
H ₃ BO ₃	0.0061	0.0031
MnSO ₄ * H ₂ O	0.0169	0.000845
ZnSO ₄ *7 H ₂ O	0.0086	0.0043
Na ₂ MoO ₄ *2 H ₂ O	0.00025	0.000125
CuSO ₄ * H ₂ O	0.000025	0.000125
Solución de Hierro-EDTA		
NaEDTA	0.0373	0.01865
FeSO ₄ *7H ₂ O	0.0278	0.0139
Vitaminas		
Ácido nicotínico	0.0005	0.00025
Piroxidina-HCL	0.0005	0.00025
Tiamina-HCL	0.0001	0.00005
Aminoácidos		
Inositol	0.10	0.05
Glicina	0.002	0.001
Sacarosa	30	15
Carbón activado	1	0.5
Agar bacteriológico	10	5