

**GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO**  
*ex vitro* E *in vitro* DE CINCO ESPECIES  
DE CACTÁCEAS DEL GÉNERO  
*Mammillaria*

**GERMINATION AND GROWTH**  
*ex vitro* AND *in vitro* OF FIVE SPECIES  
OF CACTI OF THE GENUS *Mammillaria*

**Ramírez-González, G.; J.L. Rodríguez-De la O, J. Martínez-Solís, y M.T. Colinas-León.**

GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO *ex vitro* E *in vitro* DE CINCO ESPECIES DE CACTÁCEAS DEL GÉNERO *Mammillaria*.

GERMINATION AND GROWTH *ex vitro* AND *in vitro* OF FIVE SPECIES OF CACTI OF THE GENUS *Mammillaria*.

## GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO *ex vitro* E *in vitro* DE CINCO ESPECIES DE CACTÁCEAS DEL GÉNERO *Mammillaria*

## GERMINATION AND GROWTH *ex vitro* AND *in vitro* OF FIVE SPECIES OF CACTI OF THE GENUS *Mammillaria*

Ramírez-González, G.;  
J.L. Rodríguez-De la O,  
J. Martínez-Solís,  
y M.T. Colinas-León.

GERMINACIÓN Y  
CRECIMIENTO *ex vitro* E *in vitro*  
DE CINCO ESPECIES  
DE CACTÁCEAS DEL  
GÉNERO *Mammillaria*.

GERMINATION AND  
GROWTH *ex vitro* AND *in vitro*  
OF FIVE SPECIES OF  
CACTI OF THE GENUS  
*Mammillaria*.

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 48: 99-110. Julio 2019

DOI:  
10.18387/polibotanica.48.8

G. Ramírez-González / [arzemir@gmail.com](mailto:arzemir@gmail.com)

J.L. Rodríguez-De la O

J. Martínez-Solís

M.T. Colinas-León

Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo  
km 38.5 Carr. México-Texcoco. CP 56230, Chapingo  
Estado de México. Tel (595)9521500

**RESUMEN:** Se comparó la germinación y ritmo de crecimiento (RGR) de *M. albilanata*, *M. bocasana*, *M. columbiana*, *M. rhodantha* y *M. spinosissima* bajo condiciones *ex vitro* e *in vitro*. En el primer caso se evaluaron los porcentajes de germinación (PG), velocidad de germinación (VG) y germinación media ( $G_{50}$ ). En el segundo, se determinó el RGR luego de 40 semanas de cultivo. El tratamiento *in vitro* consistió de medio Murashigue-Skoog (MS) al 25% para germinación, y MS al 50% con dosis de sacarosa (3, 6 y 9%) para crecimiento, mientras que el tratamiento *ex vitro* fue a partir de una mezcla de tierra de hoja y tezontle (1:1). El análisis de varianza y las pruebas de Tukey evidenciaron diferencias significativas entre las respuestas generadas a nivel de tratamientos y especies ( $p < 0.05$ ), obteniéndose mejores resultados en el tratamiento *in vitro*. Por otro lado, la suplementación de sacarosa al 6% y 9% generó un mayor ritmo de crecimiento en la parte aérea, mientras que en la de 3% se presentó un ritmo de crecimiento mayor en raíces, en ambos casos superiores al tratamiento *ex vitro*. La tasa de sobrevivencia de plantas obtenidas en ambas condiciones fue del 100%.

**Palabras clave:** *Mammillaria albilanata*, *Mammillaria bocasana*, *Mammillaria columbiana*, *Mammillaria rhodantha*, *Mammillaria spinosissima*.

**ABSTRACT:** The germination and growth rate (RGR) of *M. albilanata*, *M. bocasana*, *M. columbiana*, *M. rhodantha* and *M. spinosissima* were compared under *ex vitro* and *in vitro* conditions. In the first case, the germination percentages (PG), germination speed (VG) and medium germination ( $G_{50}$ ) were evaluated. In the second, the RGR was determined after 40 weeks of culture. The *in vitro* treatment consisted of 25% Murashigue-Skoog (MS) medium for germination, and 50% MS with sucrose dose (3, 6 and 9%) for growth, while the *ex vitro* treatment was from a mixture of leaf soil and tezontle (1: 1). The analysis of variance and the Tukey tests showed significant differences between the responses generated in the level of treatments and species ( $p < 0.05$ ), obtaining better results in the *in vitro* treatment. On the other hand, sucrose supplementation at 6% and 9% generated a higher growth rate in the aerial part, while in the 3% there was a higher growth rate in roots, in both cases superior to the *ex vitro* treatment. The survival rate of plants obtained in both conditions was 100%.

**Key words:** *Mammillaria albilanata*, *Mammillaria bocasana*, *Mammillaria columbiana*, *Mammillaria rhodantha*, *Mammillaria spinosissima*.

## INTRODUCCIÓN

El género *Mammillaria* comprende el grupo con mayor número de representantes dentro de la familia Cactaceae con 171 especies (Navarro y Deméneghi, 2007; cf. 200 especies, Novoa, Le Roux, Robertson, Wilson, y Richardson, 2015). El 85% de ellas son endémicas de México, razón por la cual se considera como el centro de diversificación del género (Martínez, Arroyo, Mandujano, y Golubov, 2016; Montes, López, y Cruz, 1997). Su mayor presencia se registra en zonas áridas y semiáridas, pero también existen ejemplares que se distribuyen en dunas costeras, bosque tropical caducifolio y bosque templado (Godínez, Valverde, y Ortega, 2006; Rzedowski, 2006; Torres, Méndez, Dorantes, y Durán, 2010). Desafortunadamente, desde hace casi una década 110 especies de mamilarias mexicanas se encuentran listadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 bajo diferentes categorías de riesgo (Diario Oficial, 2010). A nivel internacional el número de ejemplares mexicanos en riesgo alcanza niveles cercanos al 50% de un total de 164 especies registradas por la International Union for Conservation of Nature (IUCN, Red List of Threatened Species, 2018).

Existen diversas razones que han desencadenado y en algunos casos agravado dicha problemática. Aunque como género se distribuye en toda la República, a nivel de especies su distribución suele ser restringida a regiones y zonas con características ambientales específicas (Santos, Velásquez, y González, 2005). La extracción de ejemplares adultos, el cambio de uso de suelo y la explotación de recursos del ambiente provocan una notable disminución en el tamaño de las poblaciones, más aún, cuando por condiciones geográficas se encuentran aisladas (Ferrer, Durán, Méndez, Dorantes, y Dzib, 2011; Gómez y Hernández, 2000; Martínez *et al.*, 2016). Por otro lado, las mamilarias comparten las características típicas de la familia Cactaceae: ciclo biológico prolongado y un ritmo de lento crecimiento (Godínez *et al.*, 2006). Ello conlleva a que en los primeros estadios de su desarrollo presenten altas tasas de mortalidad y como consecuencia la población se estanca en individuos ya adaptados, mayoritariamente adultos (Godínez *et al.*, 2006). De manera previa a este periodo de sobrevivencia y adaptación, el reclutamiento de nuevos individuos por medio de la germinación de semillas resulta más bien un hecho esporádico que depende en gran medida de una serie de condiciones ambientales que raramente se presentan (Ferrer *et al.*, 2011), traduciéndose en una disminución sustancial del éxito reproductivo (Martínez, Molina, Golubov, Vázquez, y Mandujano, 2014).

A nivel experimental se han analizado factores tales como la temperatura, fotoperíodo, promotores de germinación y sustratos, que al ser modificados incrementan los porcentajes y velocidad de germinación (Flores y Jurado, 2019; Navarro y Deméneghi, 2007; Sánchez, Reyes, García, y Terrazas, 2010). La mayor parte de estos trabajos se han realizado en condiciones de invernadero, aunque también existen otros desarrollados bajo condiciones *in vitro* (Rodríguez *et al.*, 2018; Salas, Foruoghbackch, Díaz, Cárdenas, y Flores, 2011). Bajo este marco, la presente investigación tuvo como objetivo comparar los porcentajes, velocidad de germinación, germinación media y tasa de crecimiento en condiciones *in vitro* y *ex vitro* de cinco especies del género *Mammillaria* listadas en la NOM-059-SEMARNAT-2010 (Diario Oficial, 2010).

## MÉTODOS

### Material vegetal

Las especies en estudio fueron: *M. albilanata*, *M. bocasana*, *M. columbiana*, *M. rhodantha* y *M. spinosissima*, cuatro de ellas catalogadas en la NOM-059-SEMARNAT-2010 (Diario Oficial, 2010) bajo la categoría Protección especial (Pr), mientras que *M. rhodantha* se encuentra categorizada como Amenazada (A).

El material vegetal fue donado por la Asociación de Productores de Cactáceas y Suculentas de México (APC A.C.). Las semillas recién recolectadas se empaquetaron en sobres de papel Kraft

y almacenadas durante un mes a una temperatura promedio de  $24 \pm 1^\circ\text{C}$  en completa oscuridad y en un ambiente seco.

#### Desinfestación de semillas

Las semillas se seleccionaron para cada especie bajo criterios de homogeneidad en tamaño, color y forma. Posteriormente se desinfestaron mediante una serie de dos lavados con agua corriente más detergente comercial en polvo (Ariel<sup>®</sup>) y Tween 20<sup>®</sup>; inmersión en etanol al 70% durante 5 minutos; inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 10% durante 15 minutos y finalmente dos lavados consecutivos con agua estéril.

#### Germinación

Para evaluar la germinación de las semillas se compararon dos tipos de tratamientos: *in vitro* y *ex vitro*. En el primer caso, la preparación del medio de cultivo *in vitro* estuvo basada en las sales MS (Murashige y Skoog, 1962) al 25%, suplementadas con  $0.40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Tiamina,  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Myo-inositol, 3% de sacarosa, con un  $\text{pH } 5.7 \pm 0.1$  y 3% de Gelrite Gellan Gum (Sigma<sup>®</sup>) como agente gelificante. Para el tratamiento *ex vitro* se empleó una mezcla estéril de tierra de hoja y tezontle (tamaño de partícula 0.2-4.0 mm) en relación 1:1, ligeramente humedecida con agua estéril y colocada dentro de contenedores plásticos transparentes a modo de invernadero (30X26X17 cm).

Las semillas de cada especie se distribuyeron bajo un diseño completamente al azar en cada uno de los tratamientos experimentales con un total de cinco repeticiones con 12 semillas por repetición. La incubación de las semillas fue bajo condiciones controladas de luz y temperatura: 16 horas luz/8h oscuridad con una intensidad lumínica de  $30 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  y una temperatura de  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ , durante un período de 30 días después de la siembra (dds).

El criterio para definir una semilla como germinada fue la emergencia de la radícula. Las variables respuesta fueron: porcentaje final de germinación (PG), velocidad de germinación (VG) mediante el método propuesto por (Maguire, 2010) y germinación media ( $G_{50}$ ) correspondiente al número de días transcurridos después de la incubación, para alcanzar el 50% del porcentaje final de germinación.

#### Tasa de crecimiento

En una segunda fase experimental, las plantas obtenidas *in vitro* se conservaron en sus medios respectivos durante un período de 60 días posteriores a la germinación. Luego de ello, se seleccionó de manera aleatoria una muestra de 36 plantas de cada especie, salvo el caso de *M. spinosissima* donde el tamaño de muestra fue de 33 plantas. Bajo un diseño completamente al azar, se distribuyeron 12 y 11 repeticiones respectivamente en tres medios de cultivo. Para este experimento, se emplearon medios MS al 50% suplementados con  $0.40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de tiamina,  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de myo-inositol, 3%, 6% y 9% de sacarosa respectivamente, gelificados con 2.5% de Gelrite Gellan Gum (Sigma<sup>®</sup>) y ajustados a  $\text{pH } 5.7 \pm 0.1$ .

Se registraron las diferencias entre valores iniciales y finales de altura, diámetro medio, y longitud de raíz (tomando en consideración únicamente la raíz principal) para estimar la tasa de crecimiento relativo (RGR, por sus siglas en inglés) bajo la fórmula:  $(V_f - V_i) / (V_i)$  donde:  $V_f$  = valor final,  $V_i$  = valor inicial con base en lo reportado por Sumaryono, Muslihatin, y Ratnedewi (2012). El período de incubación fue de 280 días bajo condiciones de ambiente controlado: 16 horas luz/8h oscuridad con una intensidad lumínica de  $30 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  y una temperatura de  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Para las plantas obtenidas *ex vitro* se registraron las mismas variables bajo las mismas condiciones ambientales durante el mismo periodo de tiempo, con un riego por semana.

#### Aclimatización

Finalmente, las plantas obtenidas *in vitro* se aclimatizaron en la misma mezcla de sustrato que aquellas generadas *ex vitro* y se evaluó la sobrevivencia luego de 60 días.

### Análisis estadístico

Con respecto a la germinación, se realizó una transformación de los datos obtenidos en porcentaje a fin de normalizarlos mediante la función arcoseno de la raíz cuadrada de PG, denotada por la fórmula:  $PG_t = \arcseno \sqrt{PG}$ , donde  $PG_t$  es el porcentaje de germinación transformado y PG es el porcentaje a transformar dado en un rango de 0 a 1 (Rodríguez, Valdés, y Rodríguez, 2012). Para analizar los datos de  $PG_t$ , VG y  $G_{50}$  se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) de dos factores: tratamiento y especie. Posteriormente se aplicó una prueba de medias de Tukey con una  $p = 0.05$ . Con respecto al ritmo de crecimiento, los datos obtenidos fueron sometidos a un ANDEVA de dos factores: tratamiento y especie, seguidos de una prueba de medias de Tukey con una  $p = 0.05$ . Todos los procedimientos estadísticos se procesaron con el software Minitab® v.17 (Minitab Inc, 2017).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Germinación

Se presentó una respuesta diferencial en la germinación promovida en los diferentes niveles de los factores tratamiento y especie (fig. 1). El tratamiento *in vitro* presentó un efecto positivo sobre el valor de  $PG_t$  de mayor tamaño en comparación con el que se obtuvo a nivel *ex vitro*. De manera global, se observó un incremento promedio del 25% sobre los valores de  $PG_t$ , lo cual se tradujo en una mayor germinación para las cinco especies (cuadro 1).

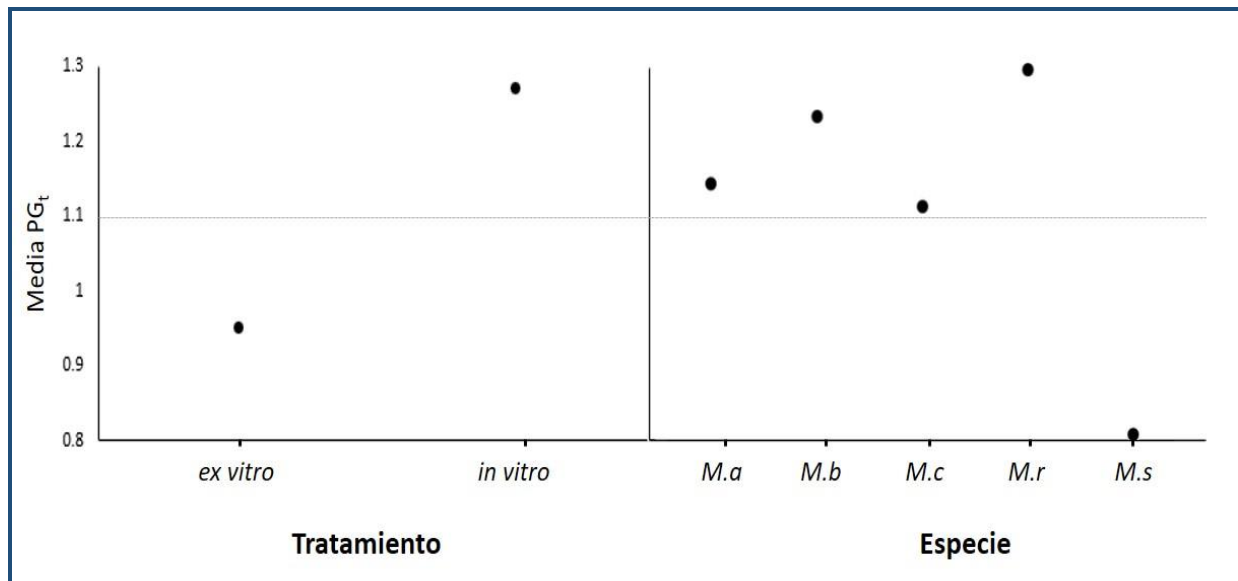


Fig. 1. Gráfica de efectos principales para  $PG_t$ . Especie: *M. albilanata*, *M. bocasana*, *M. colombiana*, *M. rhodantha* y *M. spinosissima* (30 dds).

### Porcentajes de Germinación (PG)

El análisis de varianza y la prueba de Tukey evidenciaron diferencias significativas en los valores generados por los distintos niveles de tratamiento germinativo sobre la variable respuesta ( $p = 0.012$ ). Los valores más altos de PG bajo condiciones *ex vitro* se obtuvieron en *M. bocasana* y *M. rhodantha*, sin embargo, bajo condiciones *in vitro* ambas especies compartieron valores similares de PG con *M. colombiana* y *M. rhodantha* siendo únicamente diferentes de los obtenidos en *M. spinosissima* ( $p = 0.023$ ), la cual fue en ambas situaciones la especie con menor PG.

**Cuadro 1.** Porcentaje de germinación, velocidad de germinación y G<sub>50</sub> (30 dds).

| Especie                | PG <i>ex vitro</i> | PG <i>in vitro</i> | VG <i>ex vitro</i> | VG <i>in vitro</i> | G <sub>50</sub> <i>ex vitro</i> | G <sub>50</sub> <i>in vitro</i> |
|------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| <i>M. albilanata</i>   | 60.6 b             | 92.6 a             | 1.59 b             | 2.73 b             | 12.50 b                         | 10.1 b                          |
| <i>M. bocasana</i>     | 85.2 a             | 93.3 a             | 2.40 a             | 3.50 a             | 15.20 a                         | 9.70 b                          |
| <i>M. columbiana</i>   | 59.9 bc            | 93.9 a             | 1.44 b             | 2.85 ab            | 16.40 a                         | 12.60 a                         |
| <i>M. rhodantha</i>    | 76.3 a             | 99.0 a             | 2.26 ab            | 2.80 ab            | 13.20 ab                        | 11.80 a                         |
| <i>M. spinosissima</i> | 48.6 c             | 55.1 b             | 1.16 b             | 1.83 b             | 14.80 a                         | 12.50 a                         |

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre los valores promedio de acuerdo a la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

Los resultados obtenidos en este experimento coinciden con los reportados para algunas especies del género *Mammillaria* bajo condiciones *ex vitro*, tal y como los señalados por Flores *et al.* (2011), quienes reportaron para *M. bocasana* porcentajes de germinación de 83%. En el presente trabajo para esta especie se alcanzó un PG ligeramente superior (85.2%) bajo una temperatura de  $24 \pm 1^\circ\text{C}$  y un fotoperíodo con dos horas más de luz que lo reportado, pudiendo ser esto un estímulo que incrementó la germinación. Para otras especies (*M. aurelianata*, *M. plumosa*, *M. orcutti* y *M. longimamma*) reportadas por los mismos autores, la germinación alcanzó valores de 42 % a 75%. Por otro lado, considerando las condiciones de germinación naturales como condiciones *ex vitro*, se observó un mayor contraste con lo reportado para *M. gaumeri*, especie para la cual se reportan porcentajes de germinación de apenas el 2.9% de una siembra total de 1500 semillas (Ferrer *et al.*, 2011), lo cual indica que dentro del mismo género, la germinación es sumamente variable.

Con respecto a la germinación *in vitro* se obtuvo valores que en general sobrepasaron el 90% coincidiendo con lo reportado por Ruedas, Valverde, y Castillo (2019) para especies como *M. magnimamma* (95%) y fueron también superiores a lo señalado para *M. haageana* y *M. carnea* cuyos máximos fueron de 76.71 y 72.87% (Benítez, Orozco, y Rojas, 2005). Por otra parte, Salas *et al.* (2011) reportaron porcentajes de germinación en medio MS al 50% para *Mammillaria prolifera* cercanos al 23%, mientras que para *M. pectinifera* los valores máximos reportados por Villanueva, Navarro, y Eliosa (2016) fueron ligeramente superiores al 35%. Ambos casos presentan valores mucho menores al porcentaje de germinación más bajo observado en esta investigación (51.1% para *M. spinosissima*).

Como se pudo advertir en las dos condiciones germinativas, *M. spinosissima* presentó los menores porcentajes de germinación, esto pudo deberse a que tal y como señalan Trejo (1993) existen algunas cactáceas cuyas semillas pese a ser recién recolectadas no siempre tienen la mejor viabilidad en los primeros meses tras la cosecha, y mejoran su viabilidad al cabo de un par de años.

#### Velocidad de germinación (VG)

Para la variable VG, el mayor valor se obtuvo en *M. bocasana* bajo ambas condiciones de germinación, las cuales al ser comparadas entre sí resultaron ser estadísticamente diferentes ( $p = 0.016$ ). Las especies restantes también presentaron incrementos en cuanto a la VG en el

tratamiento *in vitro*, solo para *M. spinosissima* este incremento no fue significativo entre tratamientos ( $p = 0.062$ ).

Para condiciones *ex vitro* Flores y Jurado (2019) reportaron valores de 1.25 para *A. myriostigma*, mientras que para otras cactáceas como *Pilosocereus pachycladus* el valor reportado fue de 3.91 (Abud, Gonçalves, Reis, Pereira, y Bezerra, 2010). Los valores obtenidos para esta variable en la presente investigación coinciden dentro de este intervalo, siendo el menor de 1.16 para *M. spinosissima* y de 2.40 el mayor en *M. bocasana*.

Respecto a la germinación *in vitro*, Salas *et al.* (2011) reportan valores de VG de  $0.42 \pm 0.08$  en medios de cultivo MS al 50% gelificados y suplementados con 10% de sacarosa. Específicamente para *M. prolifera* el valor de VG fue de 0.1, valor muy por debajo de lo obtenido para las especies aquí evaluadas, donde la de menor VG (*M. spinosissima*) supera más de 18 veces dicho valor de referencia.

En contraste, Santos, Martín del Campo, Arredondo, y Santos (2001) reportaron valores de hasta 8.98 obtenidos para *A. myriostigma* en medios MS al 50%. En este sentido deben tenerse en consideración las características propias de las semillas, así como su fisiología, ya que si bien las velocidades de germinación no rebasaron el valor de 3.50, los porcentajes de germinación en cuatro de las cinco especies sobrepasaron el 90%.

#### **Germinación media (G<sub>50</sub>)**

Los resultados obtenidos en condiciones *ex vitro* contrastan con lo reportado por Sánchez *et al.* (2010) para *M. mazatlanensis* donde el valor de G<sub>50</sub> (T<sub>50</sub> en su estudio) fue de 6.3 días, mientras que el valor más bajo obtenido en este trabajo fue de 12.5 días para *M. albilanata*. Pese a ello, cabe aclarar que *M. mazatlanensis* fue incubada durante el período de germinación 5°C por arriba de la temperatura utilizada en este experimento, lo cual puede influir sustancialmente en el valor de la variable. Por su parte Navarro, Cervantes y Lázaro (2008) señalan que la germinación de *M. hamata* y *M. sphaelata* ocurrió hasta la segunda y cuarta semana respectivamente (14 y 28 días), con lo que podemos inferir que los valores para G<sub>50</sub> fueron mayores a algunos de los obtenidos para las cinco especies evaluadas, y que pese a pertenecer al mismo género cada especie muestra un comportamiento diferente.

La mayor reducción en días se presentó en la condición *in vitro* para *M. bocasana* con 9.7, mientras que la menor ocurrió en *M. rhodantha* (11.8 contra 13.2 días *ex vitro*). Estos resultados contrastan con lo reportado para especies de este mismo género, donde por ejemplo, *M. magnimamma* alcanzó el valor G<sub>50</sub> a los 3.4 días (Ruedas *et al.*, 2019).

En general se observó que en la condición *in vitro* se dio una reducción significativa en el tiempo en días para alcanzar el 50% de germinación. Esto puede atribuirse principalmente a que las semillas así sembradas estuvieron expuestas a una imbibición continua lo que facilita y acelera los procesos fisiológicos previos y durante la germinación.

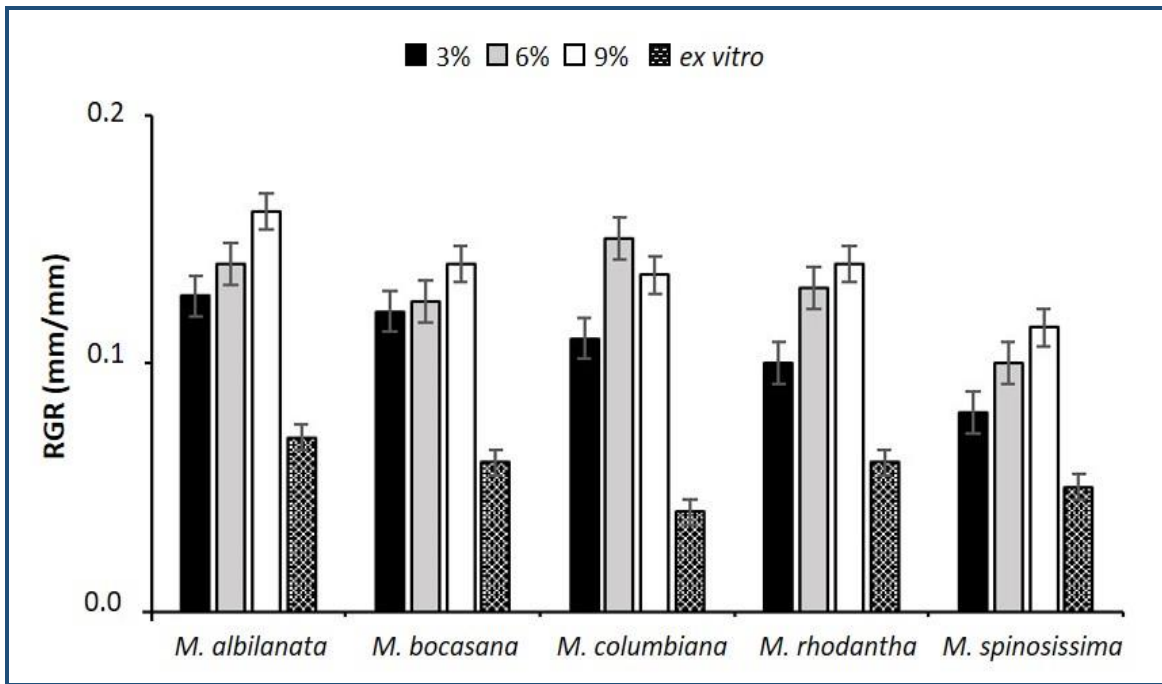
#### **Tasa de crecimiento**

Se presentan a continuación los valores de RGR calculados para altura, diámetro y longitud de raíz en condiciones *ex vitro* e *in vitro*. Si bien existen estudios donde se ha calculado el valor de RGR en cactáceas, en la mayoría de los trabajos esto se ha realizado a partir del cálculo de biomasa tanto en peso seco como en peso fresco (Balén *et al.*, 2013; Martínez y Valverde, 2008; Ruedas *et al.*, 2019) o bien respecto a aproximaciones geométricas del volumen de la planta (Loustalot, Malda, Suzán, Hernández, y Guevara, 2014).

En consecuencia, se pretende que los resultados obtenidos en este experimento constituyan un nuevo aporte para la medición de tales variables, describiendo lo encontrado.

### RGR altura

Existió diferencia estadística entre los efectos generados en RGR a nivel de tratamientos ( $p = 0.034$ ). De manera global, se puede observar que bajo condiciones *in vitro* la tasa de crecimiento es mucho mayor en todas las especies en comparación con lo que se obtuvo bajo el tratamiento *ex vitro* (fig. 2). A nivel de especies, de acuerdo a la prueba de Tukey se presentó diferencia estadística entre la tasa de crecimiento de *M. spinosissima* respecto de las especies restantes, bajo todas las combinaciones *in vitro*.



**Fig. 2.** Efecto en el valor de RGR de altura bajo tratamientos *in vitro* con tres dosis de sacarosa vs tratamiento *ex vitro*, después de 280 días de incubación. Las barras de error indican la media  $\pm$  desviación estándar.

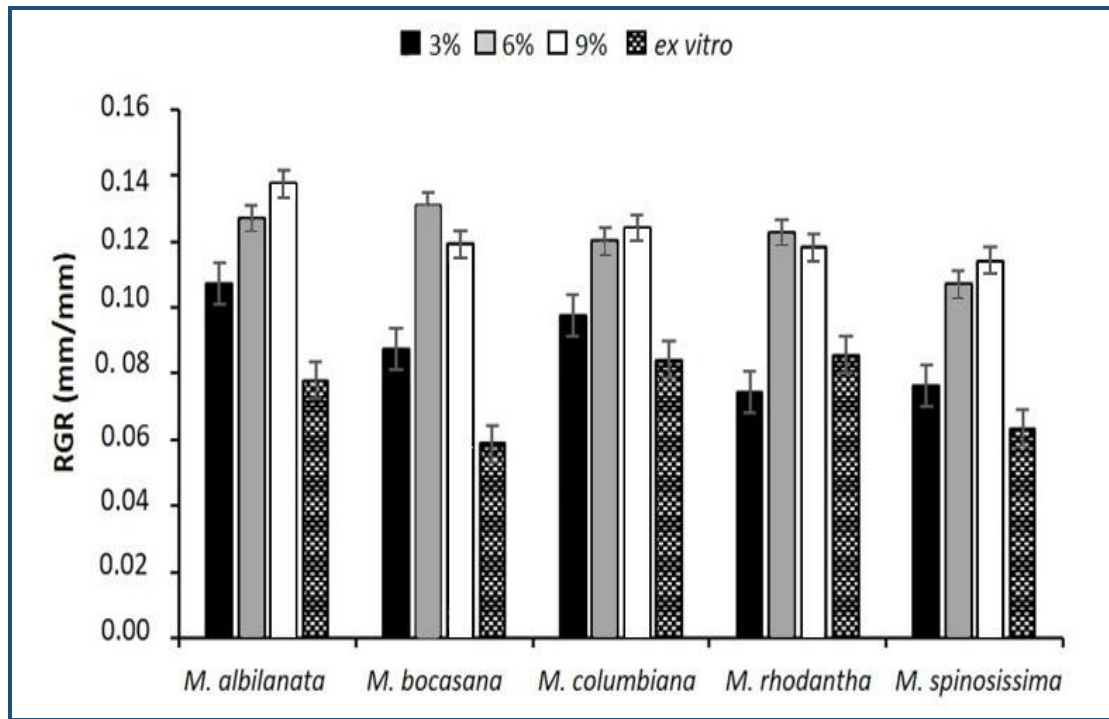
En todas las especies se observó un incremento en la tasa de crecimiento bajo los medios suplementados con dosis de 6% y 9%. Sin embargo, no hubo diferencia estadística entre los efectos de estas dos concentraciones en cuatro de las cinco especies ( $p = 0.106$ ), salvo en *M. albilanata* ( $p = 0.034$ ), lo cual sugiere que la adición de concentraciones mayores de sacarosa no necesariamente genera incrementos mayores a los que se obtuvieron con suplementaciones de 60 g.L<sup>-1</sup>.

Las plantas más altas se presentaron en *M. albilanata* bajo el tratamiento al 9% de sacarosa con una media de 68 mm y una RGR de 0.16, mientras que para esta misma especie bajo el tratamiento *ex vitro* se alcanzó una altura promedio de 36 mm y una RGR de 0.07. El resto de las especies se distribuyó en rangos de RGR de 0.5 a 0.15 y alturas de 34 mm a 63 mm.

### RGR diámetro

Al igual que en el resultado anterior, el valor de RGR fue mayor en el tratamiento *in vitro* ( $p = 0.021$ ) y a su vez dentro de éste, se obtuvieron los valores más elevados en los medios suplementados con dosis de 6% y 9% de sacarosa. Para las especies *M. columbiana*, *M. rhodantha* y *M. spinosissima* no hubo diferencia entre los efectos promovidos por ambas dosis de sacarosa, contrariamente a lo que sí ocurrió para *M. albilanata* y *M. bocasana* (fig. 3).





**Fig. 3.** Efecto en el valor de RGR de diámetro bajo tratamientos *in vitro* con tres dosis de sacarosa vs tratamiento *ex vitro*, después de 280 días de incubación. Las barras de error indican la media  $\pm$  desviación estándar.

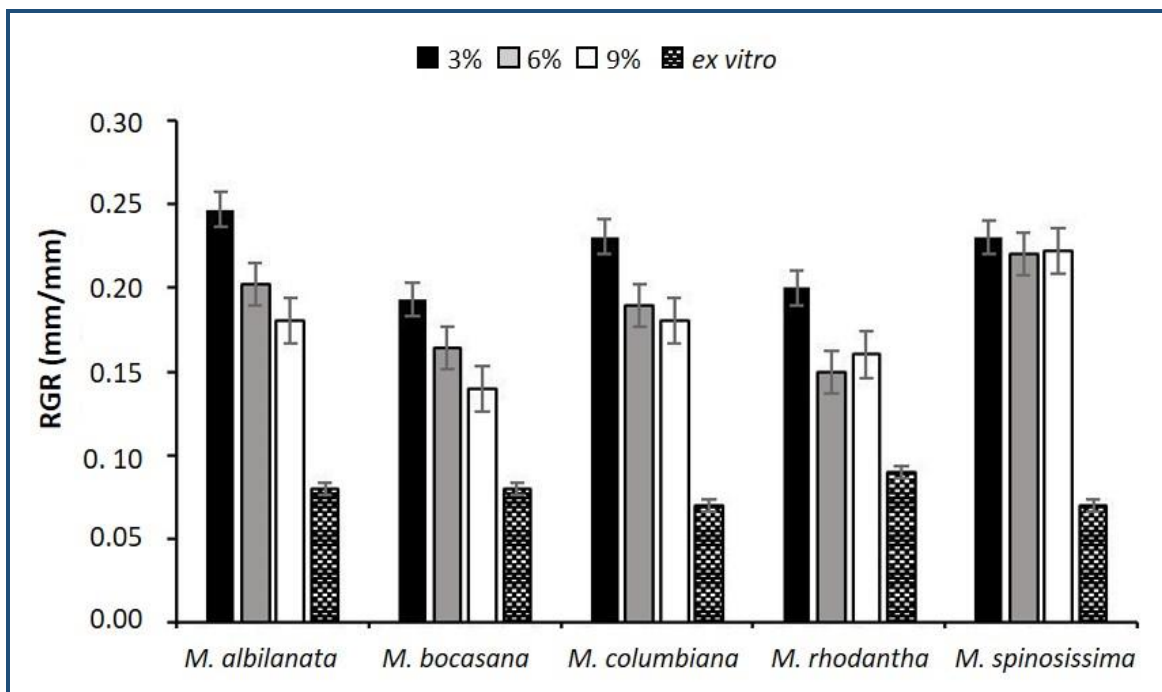
Los mayores diámetros se presentaron en *M. albilanata* con tamaños promedio de 19 mm en el mejor de los tratamientos (6%) mientras que el menor crecimiento se dio en *M. spinosissima* donde el diámetro promedio fue de 10 mm.

#### RGR longitud de raíz

Los valores de RGR en raíz presentaron diferencias significativas entre los tratamientos *in vitro* y el tratamiento *ex vitro* ( $p = 0.014$ ). Las raíces más grandes se desarrollaron en los tratamientos suplementados con el 3% de sacarosa (fig. 4), lo cual sugiere que, en dosis de sacarosa más elevadas el medio se torna hiperosmótico e inhibe la división y el alargamiento de las células de la raíz conduciendo a una menor longitud. La mayor longitud de raíz se presentó en *M. albilanata* con un tamaño promedio de 56 mm, seguidas de *M. columbiana* y *M. spinosissima* con 52 y 49 mm respectivamente. Para el caso de *M. spinosissima* no hubo diferencia en el valor de RGR bajo las tres concentraciones de sacarosa ( $p = 0.63$ ).

#### Aclimatización

Finalmente, después del período de aclimatación de 60 días, la sobrevivencia en plantas obtenidas tanto a nivel *in vitro* como *ex vitro* fue del 100%, mostrando las primeras en todos los casos mejores características respecto a tamaño y vigor.



**Fig. 4.** Efecto en el valor de RGR de longitud de raíz bajo tratamientos *in vitro* con tres dosis de sacarosa vs tratamiento *ex vitro*, después de 280 días de incubación. Las barras de error indican la media  $\pm$  desviación estándar

## CONCLUSIONES

La germinación *in vitro* de semillas de las especies evaluadas presentó mejores respuestas en comparación con el tratamiento *ex vitro* en todas las variables. Al incrementar el nivel de nutrientes *in vitro* y suplementar con dosis de sacarosa entre el 3% y 6% se promovió un mayor crecimiento en las plantas durante el mismo lapso de tiempo que de manera *ex vitro*, además de que el porcentaje de sobrevivencia final fue del 100%.

La medición de las variables altura de planta, diámetro de planta y longitud de raíces resultaron un buen indicador para evaluar la tasa de crecimiento relativo (RGR). Finalmente, los resultados obtenidos se podrían implementar como una estrategia que contemple la germinación y crecimiento *in vitro*, obteniendo plantas más grandes y vigorosas en un menor tiempo para poder dirigir las a esquemas de conservación *ex situ* e *in situ* de estas especies.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada durante la realización de mis estudios de posgrado. A la M.C.H. Julieta Rodríguez Licon y al L.H. David De la Rosa por su aporte de material vegetal para la realización de esta investigación.

## LITERATURA CITADA

- Abud, H. F., Gonçalves, N. R., Reis, R. de G. E., Pereira, D. de S., & Bezerra, A. M. E. (2010). Germinação e expressão morfológica de frutos, sementes e plântulas de *Pilosocereus pachycladus* Ritter. *Revista Ciencia Agronomica*. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902010000300021>
- Balen, B., Tkalec, M., Rogić, T., Šimac, M., Štefanić, P. P., Rončević, S., & Krsnik-Rasol, M. (2013). Effects of iso-osmotic NaCl and mannitol on growth, proline content, and antioxidant defense in *Mammillaria gracilis* Pfeiff. in vitro-grown cultures. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*. <https://doi.org/10.1007/s11627-013-9523-y>
- Benítez, R. J. L., Orozco, S. A., & Rojas, A. M. (2005). Light effect on seed germination of four *Mammillaria* species from the Tehuacán-Cuicatlán valley, central Mexico. *The Southwestern Naturalist*. [https://doi.org/10.1894/0038-4909\(2004\)049<0011:leosgo>2.0.co;2](https://doi.org/10.1894/0038-4909(2004)049<0011:leosgo>2.0.co;2)
- Diario Oficial. (2010). NOM-059-SEMARNAT-2010. *Diario Oficial*.
- Ferrer, M., Durán, R., Méndez, M., Dorantes, A., & Dzib, G. (2011). Population dynamics of genets and ramets of *Mammillaria gaumeri*, an endemic cactus of Yucatan | Dinámica poblacional de genets y ramets de *Mammillaria gaumeri* cactácea endémica de yucatán. *Boletín de La Sociedad Botánica de Mexico*.
- Flores, J., & Jurado, E. (2019). Germinación de especies de cactáceas en categoría de riesgo del desierto chihuahuense. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v2i8.539>
- Flores, J., Jurado, E., Chapa, V. L., Ceroni, S. A., Dávila, A. P., Galíndez, G., ... Pritchard, H. W. (2011). Seeds photoblastism and its relationship with some plant traits in 136 cacti taxa. *Environmental and Experimental Botany*. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.10.025>
- Godínez, A. H., Valverde, T., & Ortega, B. P. (2006). Demographic Trends in the Cactaceae. *The Botanical Review*. [https://doi.org/10.1663/0006-8101\(2003\)069\[0173:dtitc\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1663/0006-8101(2003)069[0173:dtitc]2.0.co;2)
- Gómez, H. C., & Hernández, H. M. (2000). Diversity, geographical distribution, and conservation of Cactaceae in the Mier y Noriega region, Mexico. *Biodiversity and Conservation*. <https://doi.org/10.1023/A:1008935710910>
- IUCN, *Red List of Threatened Species*. (2018). Retrieved from [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)
- Loustalot, L., Malda, B., Xochitl, G., Suzán, A. H., Hernández, S. L. G., & Guevara, E. A. (2014). Estudio de germinación y crecimiento en semillas de *Ferocactus histrix* (De Candolle). *Cactaceas y Suculentas Mexicanas*.
- Maguire, J. D. (2010). Speed of Germination—Aid In Selection And Evaluation for Seedling Emergence And Vigor1. *Crop Science*. <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183x000200020033x>
- Martínez, B. A., & Valverde, T. (2008). Growth response of three globose cacti to radiation and soil moisture: An experimental test of the mechanism behind the nurse effect. *Journal of Arid Environments*. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2008.04.010>
- Martínez, P. C., Molina, F. F., Golubov, J., Vázquez, L. A., & Mandujano, M. C. (2014). A Comparative Study of the Reproductive Traits and Floral Morphology of a Genus of Geophytic Cacti. *International Journal of Plant Sciences*. <https://doi.org/10.1086/676302>
- Martínez, R. M., Arroyo, C. G., Mandujano, M. C., & Golubov, J. (2016). Population dynamics of *Mammillaria humboldtii*, an endemic cactus from Hidalgo state, Mexico. *Botanical Sciences*. <https://doi.org/10.17129/botsci.270>
- Martínez, V. Y., Andrade, R. M., Villegas, M. Á., Alia, T. I., Villegas, T. O., & López, M. V. (2011). Cultivo in vitro de pitayo (*Stenocereus stellatus* [Pfeiffer] Riccobono). *Revista Chapingo, Serie Horticultura*, 17 (3), 95-105.
- Minitab Inc. (2017). Minitab Statistical Software Release 17 for Windows. *Minitab Release*.

**Recibido:**  
27/marzo/2019

**Aceptado:**  
29/julio/2019

- Montes, S., López, S., & Cruz, L. (1997). Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán: fascículo 14. *Books.Google.Com*.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Navarro, M. C., Cervantes, G., & Lázaro, O. (2008). Efecto de la escarificación de semillas en la germinación de dos especies de *Mammillaria*. *Zonas Áridas*, 12(1), 97–105. Retrieved from <http://revistas.lamolina.edu.pe/index.php/rza/article/view/191/189>
- Navarro, M. C., & Deméneghi, A. P. (2007). Germinación de semillas y efecto de las hormonas en el crecimiento de *Mammillaria pectinifera*. *Zonas Áridas*.
- Novoa, A., Le Roux, J. J., Robertson, M. P., Wilson, J. R. U., & Richardson, D. M. (2015). Introduced and invasive cactus species: A global review. *AoB PLANTS*. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plu078>
- Rodríguez, R. E. R., Poot, P. W. A., Rangel, L. J. A., Vaquera, H. H., González, G. O. J., & Treviño, C. J. (2018). Germinación *in vitro* de biznaga cabuchera. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i3.1226>
- Rodríguez, S. J. L., Valdés, R. Y., & Rodríguez, L. R. (2012). Tratamientos a semillas para mejorar la germinación de *Colubrina ferruginosa* Brong. *Revistas Chapingo Seria Ciencias Forestales y Del Ambiente*. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2010.01.001>
- Ruedas, M., Valverde, T., & Castillo, A. S. (2019). Respuesta germinativa y crecimiento de plántulas de *Mammillaria magnimamma* (Cactaceae) bajo diferentes condiciones ambientales. *Botanical Sciences*. <https://doi.org/10.17129/botsci.1608>
- Rzedowski, J. (2006). Vegetación de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Salas, C. L. R., Foruoghbackch, P. R., Díaz, J. M. de L., Cárdenas, A. M. L., & Flores, V. A. (2011). Germinación *in vitro* de cactáceas, utilizando zeolita como sustarto alternativo. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*.
- Sánchez, S., B., Reyes, O., A., García, M., E., & Terrazas, T. (2010). Germinación de tres Cactáceas que habitan en la región costera del noroeste de México. *Interciencia*.
- Santos, D. M. S., Velásquez, G. Y. y González, C. M. M. (2005). Pigment production by callus of *Mammillaria candida* Scheidweiler (Cactaceae). *Agrociencia*, (39), 619–626. Retrieved from <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301049317>
- Santos, M. S., Martín del Campo, J. M., Arredondo, A., & Santos, M. L. (2001). Efecto del medio de cultivo, cinetina y agentes osmóticos sobre la respuesta morfogénica de *Astrophytum myriostigma* (Cactácea). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 24(2), 2001. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61024201>
- Sumaryono, Muslihatin, Wi., & Ratnedewi, D. (2012). Effect of Carbohydrate Source on Growth and Performance of *in vitro* Sago Palm (*Metroxylon sagu* Rottb.) Plantlets. *HAYATI Journal of Biosciences*. <https://doi.org/10.4308/hjb.19.2.88>
- Torres, W., Méndez, M., Dorantes, A., & Durán, G. R. (2010). Estructura, composición y diversidad de matorral de duana costera en el litroal yucateco. *Boletín de La Sociedad Botánica de México*.
- Trejo L, G. M. (1993). Efecto del tiempo de almacenamiento en la germinación de semillas de *Mammillaria heyderi* Muchl en 4 sustratos. *BIOTAM*, 5(3), 19–24.
- Villanueva, R. M., Navarro, M. D. C., & Eliosa, H. R. (2016). Germinación de tres especies de cactáceas endémicas de México en condiciones asépticas. *Zonas Áridas*. <https://doi.org/10.21704/za.v16i1.633>