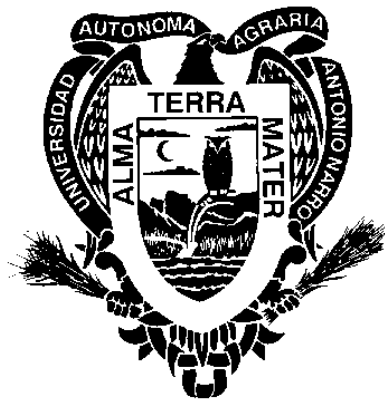


UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

DIVISION DE AGRONOMIA



Densidad, Distribución y Germinación *In-vitro* de *Mammillaria plumosa* (waber)

Por

INES HERNANDEZ GARCIA

T E S I S

Presentada como Requisito Parcial para

Obtener el Título de:

Ingeniero Agrónomo Fitotecnista

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Septiembre 2000

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

DIVISION DE AGRONOMIA

Densidad, Distribución y Germinación *In-vitro* en *Mammillaria plumosa* (Weber).

Por

Inés Hernández García

Que somete a la consideración del H. Jurado examinador como requisito parcial para

obtener el título de:

Ingeniero Agrónomo Fitotecnista

APROBADA

M.C. Leticia Escobedo Bocardo
Asesor principal

M. C. Francisca Ramírez Godina
Sinodal

Gustavo Olivares Salazar
Sinodal

M.C. Reynaldo Alonso Velasco
Coordinador de la división de agronomía

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, septiembre 2000

AGRADECIMIENTOS

A la MC Leticia Escobedo Bocado por darme la oportunidad de realizar mi trabajo de tesis en su proyecto de investigación, por su apoyo moral en ciertos momentos y por sus valiosas sugerencias y aportaciones en este trabajo.

A la Biol. Hermila García Ozuna por darme su confianza, por el gran interés mostrado y tiempo invertido en el desarrollo de este trabajo.

Al Biólogo Rubén Rojas Meléndez por su apoyo, sugerencias y tiempo invertido en la realización de este trabajo.

A la MC Francisca Ramírez Godina por sus valiosas sugerencias en la elaboración de este trabajo.

Al Ing. Gustavo Olivares Salazar por sus valiosas sugerencias en la elaboración de este trabajo.

A Doña Ernestina Solís Rangel por su apoyo y confianza.

A Graciela González Ramírez por su confianza y apoyo en el laboratorio.

A la LIC. Sandra Roxana López Betancourt por su apoyo incondicional.

Al Ing. Paulino González Zamarripa por su apoyo incondicional en todos momentos

A mis compañeros y amigos que me ayudaron en la toma de datos Gerardo, Angel, Mauricio, Reymundo, Rosy, Umberto, Horacio.

A ustedes por su amistad, mil gracias por su comprensión

DEDICATORIA

A las personas que me han tendido la mano, en los momentos mas difíciles de mi vida y que hicieron posible de una u otra forma alcanzar esta meta.

A aquellos amigos que juntos compartimos momentos de alegrías y tristezas

A mis hermanos para que esto sea motivo de superación, que todo se puede cuando en verdad se quiere algo.

A ustedes con todo mi amor

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Paginas
ÍNDICE DE CUADROS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
INTRODUCCION.....	1
Objetivos.....	2
Hipótesis.....	2
REVISION DE LITERATURA.....	3
Clasificación botánica.....	3
Descripción de la especie.....	4
Distribución de <i>Mammillaria plumosa</i>	5
Sustrato para <i>Mammillaria plumosa</i>	5
Características de la vegetación.....	5
Densidad y distribución.....	6
Método del vecino más cercano.....	6
Procedimiento de muestreo de vegetación.....	7
Tipos de distribución de las poblaciones.....	8
Distribución al azar.....	8
Distribución agregada o contagiosa.....	8
Distribución uniforme o regular.....	8
Germinación.....	9
Proceso de absorción de agua en la semilla.....	10
Latencia de la semilla.....	9
Letargo.....	10
Características del letargo.....	10

Fitorreguladores y sustancias químicas.....	12
Fitorreguladores.....	12
Efectos de las giberelinas.....	12
Efecto de la Citocinina.....	14
Efecto del nitrato de potasio.....	14
Ventajas de la germinación <i>in-vitro</i>	15
Medición de la germinación por el índice de Maguire.....	15
MATERIALES Y METODOS.....	16
Descripción del sitio experimental en campo.....	16
Localización geográfica.....	16
Características del área de estudio.....	16
Delimitación del área de estudio.....	17
Método del vecino más cercano.....	17
Tamaño de muestra.....	18
Fórmula para estimación de densidad.....	18
Formulas para determinar el tipo de distribución.....	19
Análisis estadístico de distribución de frecuencia de distancias al vecino más cercano.....	20
Descripción del área experimental en laboratorio.....	21
Obtención del material vegetal.....	21
Características del fruto y semilla.....	21
Germinación.....	22
Tratamientos.....	22
Esterilización de la semilla.....	23
Medio de cultivo.....	23
Variables de análisis.....	24
Por ciento y velocidad de germinación.....	24

RESULTADOS Y DISCUSION.....	25
Densidad poblacional de <i>M. plumosa</i>	25
Distribución espacial <i>M. plumosa</i>	25
Características del fruto.....	27
Características de la semilla.....	27
Germinación de semillas de <i>M. plumosa</i>	28
T0 (Testigo).....	28
T1 (Imbibición).....	29
T2 (KNO ₃ a 200 ppm).....	30
T3 (AG3 a 100 ppm).....	31
T4 (cinetina a 100 ppm).....	32
Respuesta de los cinco tratamientos.....	33
CONCLUSIONES.....	36
RECOMENDACIONES.....	38
RESUMEN.....	39
BIBLIOGRAFIA.....	40

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No.	Páginas
4.1 Porcentaje de germinación a los 15 y 60 días, así como velocidad de germinación de semillas de <i>M. plumosa</i> sometidas a diferentes Tratamientos (Testigo, Imbibición en agua estéril, KNO ₃ a 200 ppm, AG3 a 100 ppm y Cinetina a 100 ppm.....	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No.		Páginas
1.1	Diagrama de dispersión.....	8
4.2	Distancias del vecino más cercano en el estrato bajo de <i>Mammillaria plumosa</i>	26
4.3	Distancias del vecino más cercano en el estrato medio de <i>Mammillaria plumosa</i>	26
4.4	Distancias del vecino más cercano en el estrato alto de <i>Mammillaria plumosa</i>	26
4.5	Porcentaje de Germinación de <i>M. plumosa</i> (T0 = testigo).....	28
4.6	Semillas germinadas de <i>M. plumosa</i> en el testigo.....	28
4.7	Porcentaje de Germinación de <i>M. plumosa</i> (T1 = imbibición).....	29
4.8	Semillas germinadas de <i>M. plumosa</i> en el tratamiento 1.....	29
4.9	Porcentaje de Germinación de <i>M. plumosa</i> (T2 = KNO ₃ a 200 ppm).	30
4.10	Semillas germinadas de <i>M. plumosa</i> en el tratamiento 2.....	30
4.11	Porcentaje de germinación de <i>M. plumosa</i> (T3 = AG3 a 100 ppm).....	31
4.12	Semillas germinadas de <i>M. plumosa</i> en el tratamiento 3.....	31
4.13	Porcentaje de germinación de <i>M. plumosa</i> (T4 = cinetina a 100 ppm).	32
4.14	Semillas germinadas de <i>M. plumosa</i> en el tratamiento 4.....	32
4.15	Comparación del porcentaje de germinación de los cinco Tratamientos a los 60 días después de la siembra donde T0 = testigo, T1 = Imbibición en agua estéril, T2 = KNO ₃ a 200 ppm, T3 = AG3 A 100 ppm y Cinetina a 100 ppm.....	33

INTRODUCCION

Mammillaria plumosa es una especie de cactácea ubicada en la categoría de amenazada por la norma oficial mexicana NOM-059-ECOL-1994. Su distribución comprende los estados de Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas (Bravo y Sanchez-Mejorada, 1991).

Las principales causas que alteran la estructura de edades y el patrón de distribución de las poblaciones naturales indican que Arias en 1993, Bravo en 1978 y Alvarez y Montaña en 1997 de la mayoría de las cactáceas son: sobrecolecta, destrucción y modificación del hábitat y factores naturales (baja capacidad germinativa, lento crecimiento, depredación, condiciones ambientales adversas). Por lo anterior es de suma importancia realizar un estudio de las poblaciones naturales de *M. plumosa* para conocer su densidad y distribución.

La micropropagación es el desarrollo de plantas nuevas en un medio artificial bajo condiciones asépticas, a partir de partes muy pequeñas de plantas tales como embriones, semillas, tallos, meristemos apicales o radiculares (Hartman y Kester, 1987). En semillas de difícil germinación brinda una alternativa importante, ya que permite una propagación vegetativa rápida para especies en las que la reproducción normal es muy lenta y las plantulas generadas están libres de patógenos.

OBJETIVOS

- Determinar la densidad y el patrón de distribución espacial de *Mammillaria plumosa* en tres estratos, en la localidad de Higueras, Municipio de Ramos Arizpe, Coahuila.
- Obtener el tratamiento más adecuado para la estimulación de la germinación *in-vitro* de *M. plumosa*.
- Determinar la velocidad y porcentaje de germinación en condiciones *in-vitro* de *M. plumosa*.

HIPOTESIS

- El método del vecino más cercano nos permitirá conocer la densidad y el tipo de distribución de las colonias.
- Utilizando tratamientos químicos se puede obtener una rápida germinación *in-vitro*

REVISION DE LITERATURA

Clasificación botánica

(Bravo-Hollis y Sanchez-Mejorada, 1991)

REINO: Vegetal

DIVISION: Embryophyta

CLASE: Dicotyledonae

ORDEN: Caryophyllales

FAMILIA: Cactaceae

SUBFAMILIA: Cactoideae

TRIBU: Cacteae



GENERO: *Mammillaria*

ESPECIE: *plumosa*

N.C: viznaguita de plumas

Descripción de la especie

Bravo y Sánchez Mejorada en 1991 describen a *M. plumosa* de la siguiente manera:

Tallo.- Tallo cespitoso desde la base, globoso, de 6 a 7cm de altura y diámetro.

Tubérculo.- Tubérculos dispuestos irregularmente en 8 y 13 series espiralados, cilíndricos, de 12mm de altura y 2 a 3 mm de espesor en la base, de consistencia suave, de color verde claro, con jugo acuoso.

Axilas y Areolas.- Axilas con lana larga, blanca y areolas circulares, con lana muy corta.

Espinas.- Espinas radiales alrededor de 40, de 3 a 7mm de longitud, plumosas, suaves tortuosas, blancas y ascendentes. Espinas centrales ninguna.

Flores.- Flores campanuladas de 15mm de longitud y 14mm de diámetro segmentos exteriores del perianto lanceolado hasta claviformes, obtusos, con el margen entero, de color blanco verdoso; filamentos y estilos de color verde pálido; anteras amarillo azufre; lóbulos del estigma 3 a 5, amarillos verdosos.

Semillas.- foveoladas, negras.

Distribución de *Mammillaria plumosa*

Se distribuye en los estados de Coahuila, NuevoLeón y Tamaulipas. En Coahuila crece entre Saltillo y Monterrey, en Ojo Caliente, Higueras y Mariposa. En Nuevo León ha sido colectada en el Cañón de los Muertos y en Barretillas y en Tamaulipas, al Este de Ciudad Victoria. Se ubica en taludes calizos (Bravo y Sánchez Mejorada, 1991).

Sustrato para *Mammillaria plumosa*

Las plantas de cierto hábitat pueden tener requerimientos especiales en el sustrato; en el caso de *Mammillaria plumosa* es considerada como una planta calcícola floreciendo sobre rocas calcarías en pendientes (Innes y Glass, 1991)

Características de la vegetación

Los tipos de vegetación en las áreas donde se ubica *Mammillaria plumosa* en su mayor parte corresponde a: **Matorral desértico rosetófilo** representado por *Agave lechuguilla*, asociado comúnmente con *Yucca carnerosana*, *Hechtia scariosa*, *Dasylyrion palmeri*, *Parthenium argentatum*, *P. inacantum* y *Euphorbia antispyhillitica*. **Matorral desértico micrófilo** *Larrea tridentata*, como elemento casi constante y dominante en áreas de suelos profundos, frecuentemente se le encuentra asociado con especies protegidas por espinas como; *Mimosa biuncifera*, *Prosopis glandulosa* o inermes como *Flourenzia cernua* (Wehbe y Elizondo, 1986)

Densidad y Distribución

Densidad. Se expresa como el número de individuos por unidad de superficie o de volumen (Barbour, 1987).

Distribución espacial de la especie.- El patrón espacial de una especie se refiere a la distribución en el espacio de los individuos pertenecientes a dicha especie.

Distribución.- La forma en que se reparten en las clases posibles los valores de una determinada variable (Matteucci y Colma, 1982).

Método del Vecino más cercano

Este método consiste en seleccionar una colonia, y de esta colonia encontrar su vecino mas cercano, la distancia que se mide es la distancia que existe del centro de la primera colonia al centro de la segunda colonia.

La forma en que se procedió a seleccionar la primera colonia, fue seleccionando un punto al azar, para después tirar una cuerda de 50 m y en este punto se buscó la colonia más cercana tomando esta como primer colonia. Para este caso se procede a multiplicar la distancia media por una factor de corrección de 1.67, cuando lo individuos están distribuidos al azar (Clark y Evans 1954; Pielou 1961 citado por Barbour, 1987).

Se realizó un estudio sobre los efectos del disturbio y la orientación de ladera en *Ferocactus histrix*, en el Municipio de Cuauhtémoc (San Pedro Piedra Gorda) en el estado de Zacatecas. Para ello emplearon el método del vecino más cercano en dos sitios (área con disturbio y área conservada) Encontrándose que los sitios conservados tuvieron una proporción significativamente mayor de individuos de las clases más grandes que los perturbados, llegando a la conclusión que la exposición de ladera y el disturbio por pastoreo afectan la distribución espacial, la densidad, la cobertura y la estructura poblacional. Esta especie fue abundante en los sitios orientados al sur y libres de perturbación humana; con el sobrepastoreo se redujeron los sitios que brindan condiciones microambientales adecuadas para la germinación y el establecimiento de la especie (Del Castillo, 1987).

Procedimientos de muestreo de vegetación

Existen dos tipos de procedimientos de muestreo, sistemático y aleatorizado, esto se refiere al método que se selecciona para muestrear la población, en el muestreo sistemático cada unidad de muestra representa una porción igual del todo, y en el muestreo de tipo aleatorio cada una de las partes de la población tiene igual oportunidad de ser escogida nuevamente (Piper, 1978 citado por Castillo, 1996)

Tipos de distribución de las poblaciones

Distribución al azar. Esta disposición considera que todos los puntos en un mismo espacio tienen la misma probabilidad de ser ocupados por un organismo y además que la presencia de un individuo en un cierto punto del espacio, no afecta la ubicación de otro (Odum, 1987) Figura 1.1a.

Distribución agregada o contagiosa. En la gran mayoría de los casos en organismos silvestres, los patrones de distribución se dan en agregados; es decir, se encuentran en manchones irregulares, dispersos uno del otro (Rabinovich, 1980) Figura 1.1b.

Distribución uniforme o regular. Esta disposición se presenta cuando se toma la forma de competencia entre los individuos de la población por un cierto recurso, que a veces es el espacio y en otras ocasiones es el alimento; es por esta razón que no se cumplen las condiciones propuestas por la disposición al azar. Sin embargo, este tipo de arreglo no es muy frecuente en plantas y en animales (Franco, 1985) Figura 1.1c.

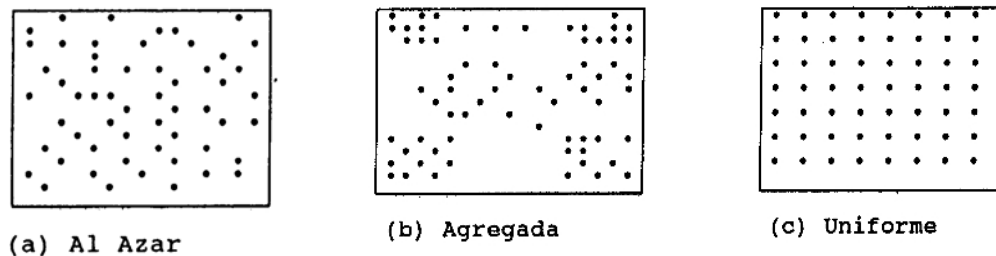


Figura 1.1. Tipos de distribución de las poblaciones

Existen valores para determinar el tipo de distribución de las colonias, cuando los valores de R se aproximan a uno representan poblaciones con distribución al azar, cuando R es cercano a cero representan poblaciones de máxima agregación y cuando R tiene valores mayores a dos representan poblaciones con perfecta uniformidad (Clark y Evans, 1954)

Germinación de la semilla

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

Proceso de absorción de agua en la semilla

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

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

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

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

Edmon (1981) citado por García (1993) indica que el propósito de remojar las semillas en agua es modificar las cubiertas, remover los inhibidores, ablandar las semillas y reducir el tiempo de germinación. En algunos casos este tratamiento supera el letargo de la cubierta de la semilla y estimula la germinación.

Latencia de la semilla

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

Letargo

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

Características del letargo

El letargo puede presentarse con menor o mayor intensidad y uniformidad en una determinada población de semillas de una especie.

Letargo parcial.- Una parte mas o menos importante de la población de semillas germina, pero el resto no lo hace y sigue aletargada.

Letargo intermitente.- La población germina de manera intermitente a lo largo de un dilatado período de tiempo, lo que puede hacer de modo continuo, esporádico o regular.

El letargo parcial y el letargo intermitente pueden producirse aisladamente o en combinación por dos causas. La primera es que, al menos en condiciones naturales, no todas las semillas individuales que componen la población están estrictamente sometidas a las mismas condiciones ambientales; la segunda, por causas genéticas o por influencias de factores ambientales que actúan durante la maduración. Como no todas las semillas se ven afectadas con igual intensidad, se provoca el polimorfismo, es decir, que la población se compone de semillas que son distintas morfológicamente y al mismo tiempo, presentan distintas intensidades de letargo, (Besnier, 1989)

Ciertas semillas no germinan cuando recién son colectadas, existen dos interpretaciones al respecto una es que las semillas necesitan un período de reposo antes de germinar y el otro punto de vista es que requieren de ciertos cambios que se denominan de post-maduración que operan durante su aparente reposo, estas condiciones pueden ser imitadas o aceleradas por tratamientos adecuados, (Davies y Rose, 1912, Stoke, 1965 citado por Gouvêa, 1983)

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

Fitorreguladores y sustancias químicas

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

Efectos de las giberelinas

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

Las giberelinas parecen transportarse fácilmente en el embrión hidratado por ser hidrosolubles y atravesar fácilmente las membranas celulares; inducen la acción de las enzimas hidrolíticas existentes en las semillas y su nueva síntesis, intervienen en el metabolismo de la glucosa, en la respiración y en la síntesis de nuevas proteínas, incluyendo las proteínas enzimáticas, (Besnier, 1989)

Las giberelinas han sido utilizadas como promotoras de la germinación en diferentes especies de cactáceas, las concentraciones varían de 0.1 a 100 ppm (García, 1993, Moreno, *et al.* 1992, Peña-Yáñez *et al.*, 1995, Sánchez, 1997)

Moreno *et al.*, (1992) trabajaron en la germinación de *Echinomatus mariposensis* dando un pretratamiento de remojo por 18 horas a todas las semillas. Establecieron 5 tratamientos: T1= Testigo, T2= Escarificación, T3= Escarificación + GA 0.5ppm., T4= Escarificación + GA 1ppm, T5= GA al 0.5 ppm. La escarificación constó de dos a tres pasadas ligeras, a través de una lija de grano fino, las soluciones de ácido giberelico (GA) se adicionaron sobre papel filtro a una temperatura de 24°C por 5 minutos.

Los resultados mostraron que el T3, el cual corresponde a escarificación y giberelinas 0.5 ppm obtuvo el más alto porcentaje de germinación con un 81.6% de germinación el 76.6% de germinación correspondió al T4, mientras que el T5 presentó el mas bajo porcentaje de germinación, 48%.

Peña-Yáñez *et a.l*, (1995) trabajaron con cinco especies de *cactáceas*, *Echinocatus spp.* y *Ferocactus spp.*, el medio basal que utilizaron fue el Murashige and Skoog (MS) al 50% de su concentración, adicionando 30 g/l de azúcar morena y 7 g/l de agar. Antes de ser colocada en el medio nutritivo MS la semilla se sometió a diferentes tratamientos T1= testigo, T2= Semilla remojada en solución de 1.0 mg/l de GA3 por 30 min a temperatura ambiente, T3 = 0.5 mg/l de GA3, T4= Semilla remojada en una solución de 0.5mg./l de GA3 por una hora a 45°C. Evaluaron a los 45 días el porcentaje de germinación obteniendo como mejor resultado el Tratamiento 3 con un promedio para las cinco especies de 51.27% de germinación, seguidos por T1, T4 y T2 con un promedio de 46.60, 38.87 y 33.49% de germinación respectivamente.

Efecto de la citocinina

Producen una mayor actividad en el ritmo de la mitosis celular, y promueven el alargamiento celular además promueven el rompimiento del letargo de las yemas y semillas en muchas especies (Rojas, 1978)

Las citocininas promueven síntesis de proteínas, afectan a los fenómenos de permeabilidad de las membranas celulares, estimulan el alargamiento de la radícula y la expansión de los cotiledones, intervienen en la regulación de los niveles de giberelinas y en la actividad de enzimas hidrolíticas existentes en los cotiledones. El equilibrio entre las cantidades de citocininas e inhibidores, principalmente ácido abscísico, determina la continuación o terminación del letargo, (Besnier, 1989)

Krulik (1981) trabajó con semillas del genero *Tephrocactus* que normalmente son difícil de germinar en cultivo; para su experimento utilizaron el medio basal Murashige and Skoog (MS) con o sin 1.25 ppm de IAA + 0.125 ppm de cinetina obteniendo un 80 y 30 por ciento de germinación en dos meses respectivamente.

Efectos de Nitrato de Potasio

Los nitratos han sido utilizados para la germinación en semillas recién colectadas y sensibles a la luz (Kolleret *al.*, 1962)

El uso de una solución de nitrato de potasio (KNO_3) al 0.2%, para el humedecimiento inicial de substrato en las pruebas de germinación, es recomendado para superar la latencia en semillas; especialmente en gramíneas (Moreno, 1976)

Nava-Esparza y Chavez-Avila, (1982) realizaron pruebas de germinación de *Echinocactus grandis* y detectaron problemas de latencia, para romperla se les dio un pretratamiento de escarificación con ácido sulfúrico concentrado y un tratamiento adicional de nitrato de potasio a 0.2 por ciento. Las semillas se escarificaron a 1, 5 y 10 minutos con el objeto de determinar cual era el mejor tiempo. Algunos no se trataron con nitrato de potasio, solamente se imbibieron con agua estéril previamente a su siembra en el medio. La germinación de semillas en el medio demostró que el tratamiento adicional de nitrato de potasio acortó ligeramente el tiempo necesario para la obtención de plántulas.

Ventajas de la germinación *in-vitro*

Una de las ventajas de utilizar la técnica *in vitro* es obtener material libre de patógenos. El medio MS ha sido utilizado a la mitad de su concentración de macronutrientes para la germinación (Heras, 1990; Peña-Yáñez, 1995)

Medición de la Germinación por el Índice de Maguire

La velocidad de germinación puede ser usada como una herramienta para la evaluación del vigor de la semilla.

Índice de Maguire. (Maguire, 1962)

$$IM = \frac{\text{Número de semillas germinadas}}{\text{Días transcurridos}} + \dots + \frac{\text{Número de semillas germinadas}}{\text{Días transcurridos}}$$

MATERIALES Y METODOS

Esta investigación se divide en dos fases, la de campo y laboratorio.

Descripción del sitio experimental en campo

Localización geográfica

Este trabajo fue realizado cerca del poblado de Higueras, Municipio de Ramos Arizpe, Coahuila, cuyas coordenadas geográficas son de 25° 38' 33" de latitud Norte y 100° 48' 35" de longitud Oeste a una altitud de 1500 msnm.

Características del área de estudio

El municipio de Ramos Arizpe está enclavado en una región semiárida, fuertemente montañosa, en donde la Sierra Madre Oriental lo atraviesa de sureste a noreste, existiendo valles de considerable extensión.

El rango altitudinal va de los 750 a los 2200 msnm y la superficie del municipio se caracteriza por la predominancia de rocas mesozoicas de origen sedimentario marino, los litosoles y regosoles calcáricos son suelos dominantes en el municipio.

En lo referente al clima, las lluvias son escasas todo el año, exceptuando en las partes altas de las sierras, y la temperatura media anual varía, pues en las partes altas de las

sierras va de los 14 a 16°C, mientras que en las bajas va de los 20 a los 22°C (Wehbe y Elizondo, 1986)

Delimitación del área de estudio

El muestreo poblacional de *Mammillaria plumosa* se realizó en la localidad de Higueras, Municipio de Ramos Arizpe, Coahuila, previo permiso autorizado por la Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAP) en 1998.

El área muestreada fue de 550 x 560m lo que nos dió un área total de 307,500m², dicha área se dividió en tres estratos (baja, media y alta) en base a las características orográficas y de disturbio observadas, se tomó como estrato bajo las colonias ubicadas en la zona de ascenso. La parte plana llamada cuneta se consideró como estrato medio.

El estrato alto fue la parte con mayor altitud del área muestreada.

Método del vecino más cercano

Para este estudio, se realizó un premuestreo, el cual nos dió como resultado un tamaño de muestra de 123 puntos; los cuales se marcaron en un mapa de la localidad en un diseño sistemático.

Se utilizó una cuerda de 50m y con la ayuda de una brújula se ubicaron los puntos cardinales, posteriormente se buscó la colonia, una vez encontrada se midió la distancia desde el centro de la colonia, al centro de la colonia vecina más cercana, utilizando cinta métrica de 100m.

Tamaño de muestra

El valor de n se obtuvo mediante la siguiente fórmula (Freesse, 1970).

$$n = \frac{t^2 s^2}{E^2}$$

donde:

n= Tamaño de la muestra necesaria.

t= Tiene n-1 grados de libertad.

s² = varianza.

E = Error estándar

$$E = t \left(\frac{s}{\sqrt{n}} \right)$$

para:

t = 95% de confiabilidad

Fórmulas para estimación de densidad

La densidad se determinó por la fórmula descrita por Barbour (1987).

$$\text{Densidad} = \frac{10.000 \text{ m}^2}{1.67 (\text{distancia media})^2}$$

Distribución

Las fórmulas utilizadas para determinar la distribución fueron las del vecino más cercano de Evans y Clark (1954) que se describen a continuación.

Fórmulas para determinar el tipo de distribución

$$\bar{r}_A = D.M = \frac{\sum r}{N}$$

$$A.M = (1.67 \times D.M)^2$$

$$\bar{r}_E = \frac{1}{2\sqrt{\rho}}$$

$$R = \frac{\bar{r}_A}{\bar{r}_E}$$

Donde:

N .- Número de distancias medidas en la población observada de una muestra.

ρ .- Densidad de la distribución observada, expresada en número de individuos por unidad de área.

Σr .- Sumatoria de todas las medidas de las distancias a su vecino más cercano.

\bar{r}_A .- Media de las series de distancias al vecino más cercano.

\bar{r}_E .- Distancia media esperada.

R = Grado de medida entre la distribución observada y la distribución esperada.

$D.M$ = Distancia media

$A.M$ = Area media

1.67 = Factor de corrección para poblaciones con distribución al azar.

Distribución de Frecuencia de Distancias

Las fórmula utilizada para determinar los rangos de clase se tomaron del libro de Métodos Estadísticos de Little y Hills, (1989)

Se elaboraron tablas de frecuencia con los siguientes componentes: Rango (R), Límite real de clase (LRC), Punto medio de clase (PMC) y Frecuencia absoluta (F_i).

Descripción del área experimental en laboratorio

El trabajo de germinación se realizó en el laboratorio de Biotecnología del Departamento de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (U.A.A.A.N), localizada en Buenavista a 7 kilómetros, al sur de la ciudad de Saltillo, Coahuila (I.N.E.G.I. 1990)

Obtención del material vegetal

Las semillas de *Mammillaria plumosa* se colectaron de frutos en madurez fisiológica, los cuales se cosecharon directamente en la localidad de Higueras, Municipio de Ramos Arizpe Coahuila, donde se realizaron los estudios poblacionales de esta especie.

En el laboratorio se partieron los frutos transversalmente, se extrajeron las semillas y se secaron a temperatura ambiente.

Características del fruto y semilla

Fue calculado el peso promedio de la semilla (gr) con una balanza analítica y el tamaño del fruto (ancho y largo en mm) se determinó con la ayuda de un vernier.

Germinación

Para lograr la esterilización de las semillas se realizaron pruebas preliminares con hipoclorito de sodio (cloralex) al 10 y 20% a tiempos de 20 y 25 minutos.

Posteriormente se colocaron 480 semillas en un vaso de precipitado con 50 ml de agua destilada más 2 gotas de twen 20, se mantuvieron en agitación, se hizo el cambio

de agua destilada cada hora por 7 veces, posteriormente las semillas se imbibieron en cada uno de los tratamientos por 48 horas, en el cuarto de incubación.

T0= Testigo (solo esterilización)

T1= Agua estéril.

T2= Solución de Nitrato de potasio (KNO_3) a 200 ppm.

T3= Acido giberélico (AG_3) a 100 ppm.

T4= Cinetina a 100 ppm.

Se utilizaron 10 semillas por tratamiento con 12 repeticiones cada uno. Una vez transcurrido el tiempo se procedió a trabajar en la cámara de flujo laminar en condiciones de asepsia absoluta.

Esterilización de la semilla

El procedimiento de asepsia se llevó a cabo en la campana de flujo laminar con los siguientes pasos:

Las semillas fueron colocadas en un vaso de precipitado de 50 ml.

1° Se le agregó alcohol al 70% por un minuto

2° Dos veces se enjuagaron por dos minutos con agua destilada estéril.

3° Se sumergieron en hipoclorito de sodio al 10% por 25 minutos.

4° Tres veces se enjuagaron con agua destilada estéril durante un minuto.

5° Posteriormente se pasaron a cajas de petri estériles.

6° Se sembraron asépticamente en frascos gerber con medio nutritivo MS al 50 %.

Medio de cultivo

Se utilizó el medio basal Murashige y Skoog (1962) a la mitad de su concentración de macronutrientes, se suplementó con 8 g/l de agar, 25 gramos de sacarosa, 100 mg/l de inositol, 50 mg/l de ácido nicotínico, 50 mg/l de piridoxina - HCl, 10 mg/l de tiamina - HCl y 2 mg/l de glicina a un pH de 5.7. Finalmente el medio se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Variables de análisis

Por ciento y velocidad de germinación

Se tomaron datos para cada uno de los tratamientos cada 24 horas durante 60 días, procurando hacer la toma de datos a la misma hora, considerando como semilla germinada aquella que mostró la radícula emergida.

La velocidad de germinación se obtuvo por el índice de Maguire. (Maguire, 1962).

Índice de Maguire. (Maguire, 1962)

$$IM = \frac{\text{Número de semillas germinadas}}{\text{Días transcurridos}} + \dots + \frac{\text{Número de semillas germinadas}}{\text{Días transcurridos}}$$

Para el por ciento de germinación se tomaron los datos de cada uno de los tratamientos con sus respectivas repeticiones a los 15 y 60 días después de su siembra. Se utilizaron 10 semillas por tratamiento con 12 repeticiones.

RESULTADOS Y DISCUSION

Densidad poblacional de *M. plumosa*

Después de analizar los datos de campo de este trabajo se encontró que en el estrato bajo se presentó la mayor densidad de *M. Plumosa* con 53.98 colonias/hectárea, en el estrato medio se presentó la menor densidad con un promedio de 3.05 colonias/ha y en el estrato alto se obtuvo una densidad de 8.8 colonias/ha.

Se infiere que por la presencia de roca caliza existe mayor número de colonias en el estrato bajo aun cuando presenta disturbios, ya que de acuerdo a (Innes y Glass, 1991) las plantas de *Mammillaria plumosa* requieren de altas concentraciones de Calcio; la baja densidad de colonias en el estrato medio se debió al disturbio por pastoreo, escasa vegetación y baja presencia de roca caliza. El número de colonias en el estrato alto fue menor que el presentado en el estrato bajo básicamente por la diferencia de altitud entre ellos.

Distribución espacial *M. plumosa*

Cuando los valores de R son cercanos a cero el patrón de distribución espacial es agregado, cuando $R=1$ la distribución es al azar y cuando el valor de R es igual o mayor que 2 su distribución es uniforme (Clark y Evans, 1954)

El estrato bajo presentó una $R= 0.329$ que corresponde a una distribución que tiende a la agregación, en la Figura 4.2 se muestra que la mayor frecuencia de distancias se encuentra en la marca de clase más pequeña lo que nos corrobora que la distribución tiende a la agregación, esto es debido a que existe mayor afloramiento de roca madre y esto favorece a que exista un microclima para el establecimiento de los individuos.

El estrato medio registró una $R= 1.37$ valor que tiende a la uniformidad Figura 4.3, porque no existe el tipo de hábitat que se requiere, esta área presenta poca cobertura vegetal, escaso afloramiento de roca madre, existe disturbio por pastoreo y esto genera la falta de un microclima que favorezca el establecimiento de nuevos individuos en la población de plantas.

En el estrato alto, el valor de $R= 0.80$ se acerca a 1 en donde el patrón de distribución es al azar. En la Figura 4.4 se muestra que las distancias al vecino más cercano, tiene un valor medio, con respecto a los otros estratos, esto podría deberse a que las características orográficas presentan mayor exposición solar y posiblemente hay una preferencia altitudinal de la planta.

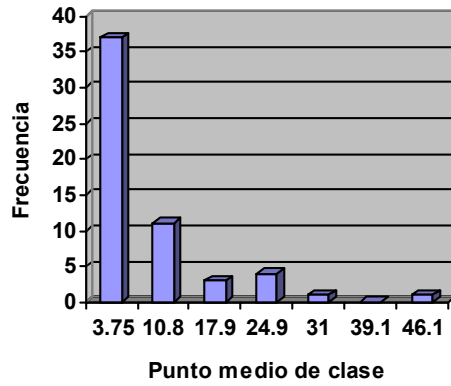


Figura 4.2.- Distancias del vecino más cercano en el estrato bajo de *Mammillaria plumosa*.

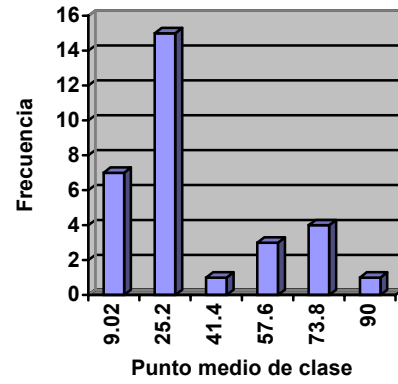


Figura 4.3.- Distancias del vecino más cercano en el estrato medio de *Mammillaria plumosa*.

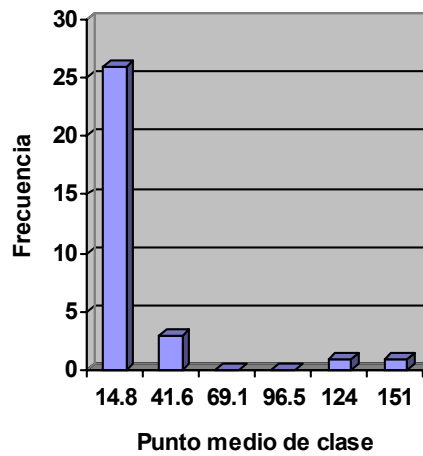


Figura 4.4. Distancias al vecino más cercano en el estrato alto de *Mammillaria plumosa*.

Características del fruto

Se colectaron los frutos de *Mammillaria plumosa* a finales de marzo y principios de abril en el área de muestreo, miden 4.2 mm de longitud y 3.2 mm de espesor; se observó que son frutos claviformes, desnudos, de color rosa castaño, blanquecina hacia su base, y con corteza delgada.

Características de la semilla

En promedio se encontraron 24 semillas de *Mammillaria plumosa* por fruto, fluctuando de 4 a 62 semillas por fruto; el peso promedio de la semilla fue de 0.25 mg; poseen testa foveolada de color café oscuro a negro.

Germinación de semillas de *Mammillaria plumosa*

En el Tratamiento 0 (Testigo) Figura 4.5, a los 15 días se obtuvo un 4.16% de semillas germinadas y a los 60 días un 25.83%, presentando una etapa de no-germinación a los 30 y 35 días.

Como podemos observar en la Figura 4.6, la germinación se comportó casi constante en la segunda, tercera y quinta semana, posteriormente se disparó en la cuarta semana y en la quinta semana no hubo semillas germinadas esto nos indica que las semillas presentan diferente grado de intensidad de letargo (Besnier, 1989).

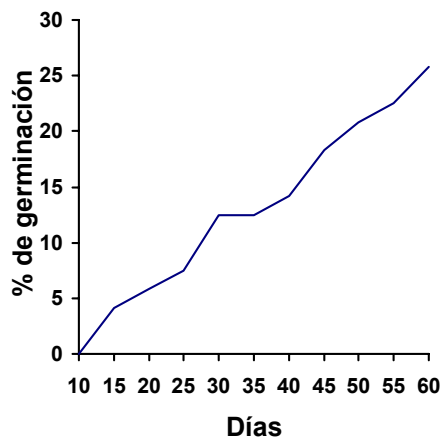


Figura 4.5. Porcentaje de Germinación de *M. plumosa* (T0 = testigo)

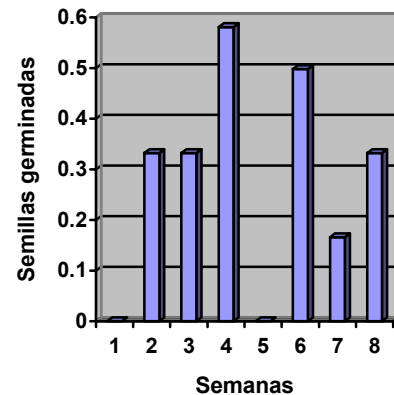


Figura 4.6.- Semillas germinadas de *M. plumosa* (T0 = testigo)

Para el tratamiento uno, semilla imbibida en agua destilada, se obtuvo un 0.83% de germinación en los primeros 15 días y a los 60 días un 33.83%. Figura 4.7.

En el histograma de frecuencia se observó que en la quinta semana fue menor el número de semillas germinadas que en la sexta y séptima semana. El comportamiento fue muy parecido al del tratamiento 0 testigo, lo que parece reafirmar que las semillas presentan diferentes grados de letargo. Figura 4.8.

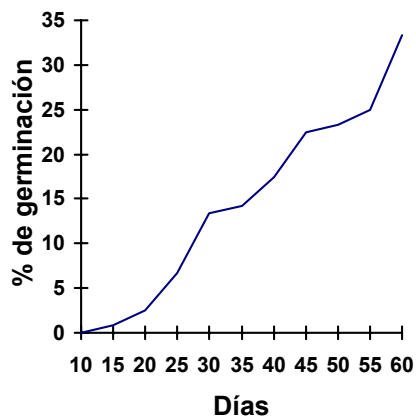


Figura 4.7.- Por ciento de germinación de *M. plumosa* (T1 = Imbibicion)

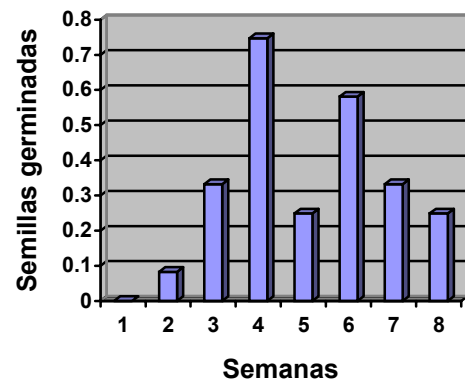


Figura 4.8.- Semillas germinadas de *M. plumosa* (T1 = Imbibicion)

En el tratamiento dos, semilla imbibida en una solución de nitrato de potasio a 200 ppm, fue el mejor de los tratamientos probados en este experimento presentando un 5.83% de germinación a los 15 días y un 40.83% a los 60 días. Figura 4.9. Notándose en el histograma de frecuencia que el máximo valor para semillas germinadas 0.83 se alcanzó en la tercera semana, en la cuarta semana se tuvo un valor cercano al anterior, 0.74 semillas germinadas, para luego disminuir gradualmente. Figura 4.10

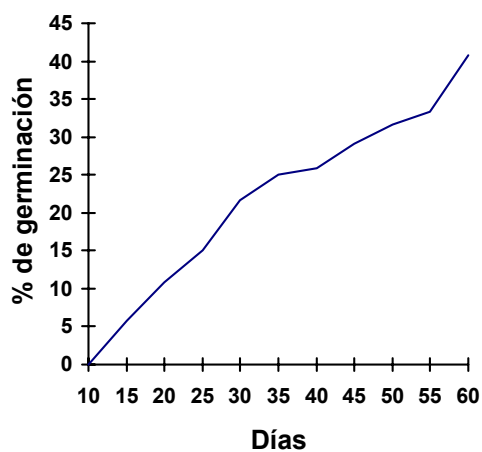


Fig.4.9.- Porciento de germinación de *M. plumosa* (T2 = KNO₃ a 200 ppm)

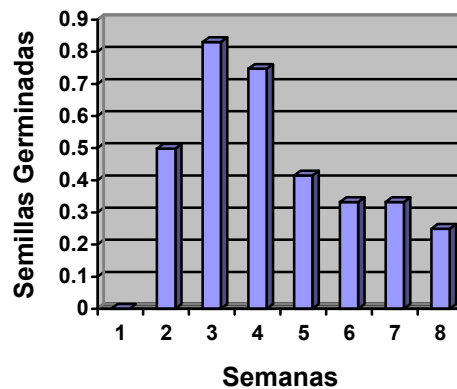


Figura 4.10.- Semillas germinadas de *M. plumosa* (T2 = KNO₃ a 200 ppm)

El tratamiento tres, giberelinas a 100 ppm, Figura 4.11, resultó inhibitorio, presentando un 9.10% de germinación a los 60 días. En la Figura 4.12 se observa que en la tercera y quinta semana se presentó mayor geminación mientras que en la cuarta, sexta y séptima semana fue menor, siendo muy irregular en el tiempo posiblemente por ser una alta concentración impidió la absorción de agua, o por ser semillas silvestres recién colectadas no germinan, presentando diferente grado de letargo por condiciones adversas del medio ambiente (Rabenda, 1990). Mientras que otros estudios realizados por Peña *et al*, 1995 y Moreno *et al*, 1992, muestran que es promotora de la germinación.

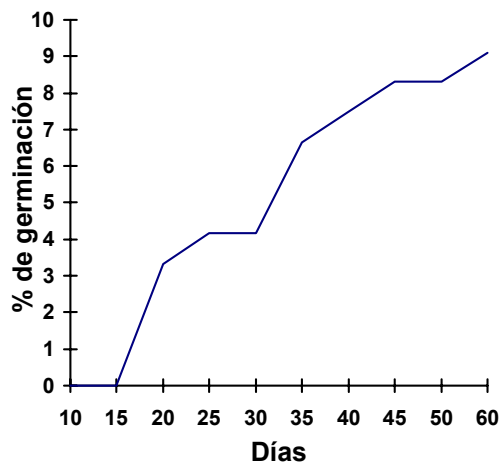


Figura 4.11. Porcentaje de germinación de *M. plumosa* ($T_3 = AG_3$ a 100ppm T_3)

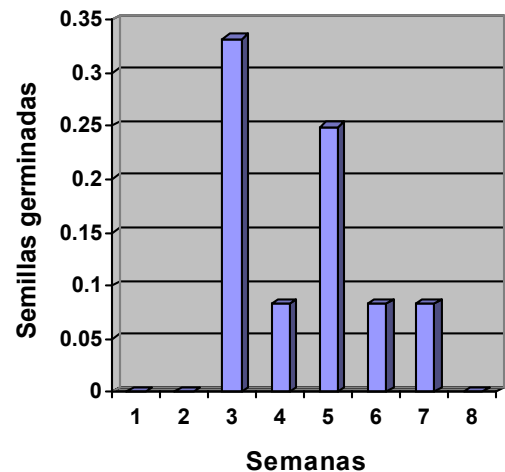


Figura 4.12.- Semillas germinadas de *M. plumosa* ($T_3 = AG_3$ a 100ppm T_3)

El tratamiento cuatro, semilla imbibida en cinetina a 100 ppm, presentó un 2.5% de germinación a los 15 días y un 30% a los 60 días (Figura 4.13) el resultado que se obtuvo es muy bajo en comparación al resultado que obtuvo Krulik 1981 con un 80% de germinación en *Thephorocactus*, solo que en su experimento utilizó la cinetina en combinación con el IAA por lo que no podemos atribuir completamente a la cinetina el incremento de la germinación. En la Figura 4.14 se observa que hubo mayor número de semillas germinadas en la sexta semana, mientras que en la cuarta y octava semana fue el mismo número de semillas germinadas.

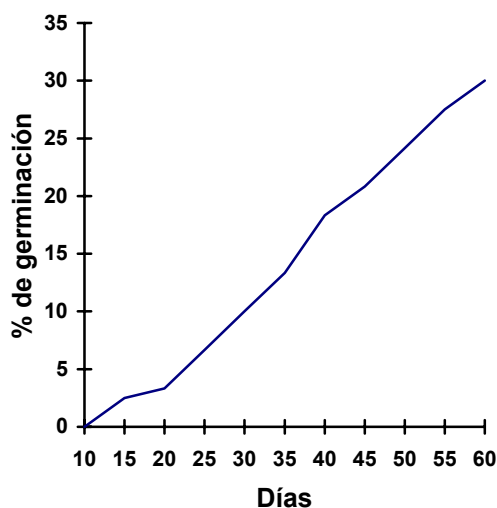


Figura 4.13. Porcentaje de germinación de *M. plumosa* (T_4 = cinetina a 100 ppm)

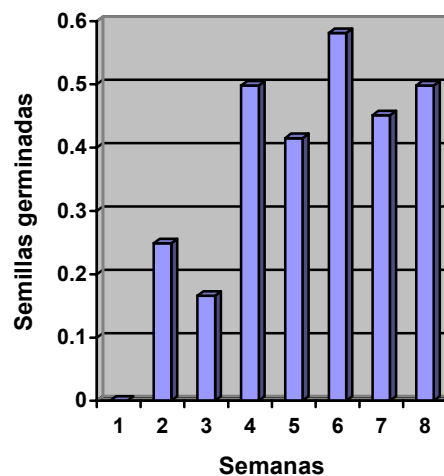


Figura 4.14.- Semillas germinadas de *M. plumosa* (T_4 = cinetina a 100 ppm)

Como se puede apreciar en las curvas de germinación que se muestran en la Figura 4.15, el tratamiento con nitrato de potasio fue el que obtuvo el más alto porcentaje de germinación con 40.83%, seguido de los tratamientos 1, 4 y 0 con 33.83, 30, 25.83 por ciento respectivamente y con el más bajo porcentaje de germinación el tratamiento 3 con un 9.10%.

Las curvas de germinación tienen diferentes tendencias, iniciando la germinación a los 11 días el T₀ y T₂, T₄ a los 12 días, T₁ a los 14 días y T₃ a los 16 días, por lo que se deduce que no existe homogeneidad en la maduración de las semillas.

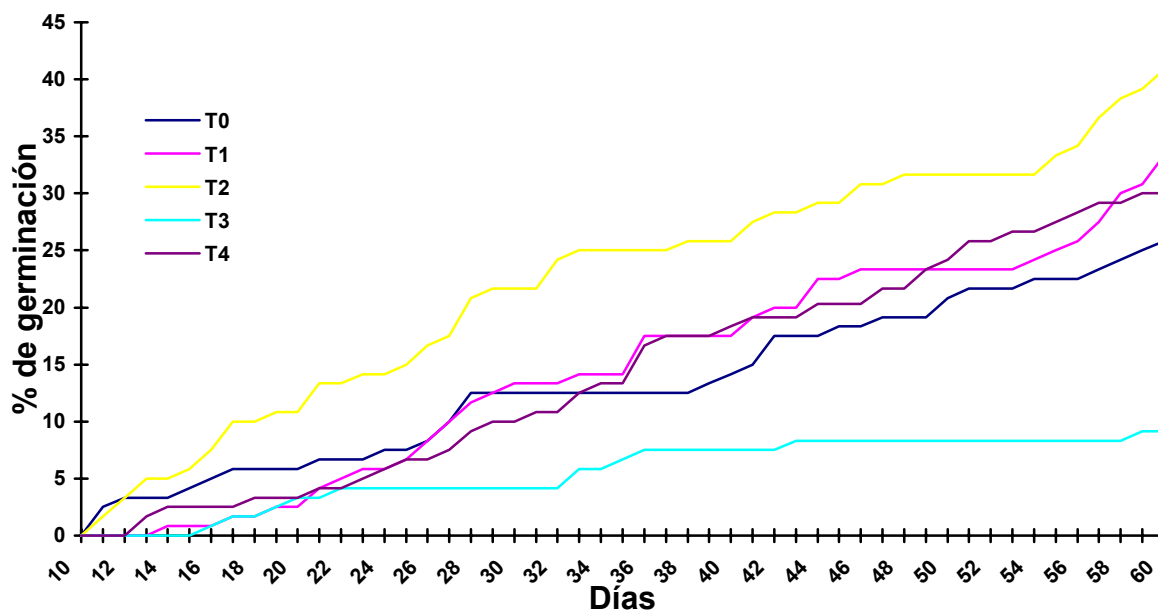


Figura 4.15.- Comparación del por ciento de germinación de los cinco tratamientos a los 60 días después de la siembra, donde T₀ = Testigo, T₁ = Imbibición en agua estéril, T₂ = NKO₃ a 200 ppm, T₃ = AG₃ a 200 ppm, T₄ = cinetina a 100 ppm.

En el Cuadro 1 se observa que el tratamiento que mejor ayudó al rompimiento del letargo y mayor velocidad de germinación con 1.7 fue el nitrato de potasio a 200 ppm, por ser una solución que sustituye la luz en semillas fotoblásticas positivas Kolleret *et al.*, (1962). El testigo, la aplicación de agua estéril y la Cinetina muestran resultados muy semejantes, tanto en por ciento de germinación como en velocidad de germinación, esta última con resultado de 1.03, 1.1 y 1.04 respectivamente, observando que la Cinetina no logró romper el letargo en las semillas, y la germinación que se obtuvo fue por la imbibición en agua. El tratamiento con giberelinas fue inhibitorio al mostrar el menor porcentaje y velocidad de germinación de 0.35.

Es claro que a los 15 días el porcentaje de germinación fue demasiado bajo fluctuando entre 0% para el peor tratamiento AG3 a 100 ppm y de 5.83 % para el mejor tratamiento KNO₃ a 200 ppm.

Cuadro 4.1. Porcentaje de germinación a los 15 y 60 días, así como velocidad de germinación de semillas de *M. plumosa* sometidas a diferentes tratamientos (Testigo, Imbibición en agua estéril, KNO₃ a 200 ppm, AG₃ a 100 ppm y Cinetina a 100 ppm)

<i>Mammillaria plumosa</i>	Germinación		
	Porcentaje		Velocidad
Tratamiento	15 días	60 días	
T0 = Semillas sin tratamiento (testigo)	4.16	25.83	1.03
T1 = Semilla imbibida con agua estéril	0.83	33.83	1.1
T2 = Semilla imbibida en una solución de nitrato de potasio (KNO ₃) a 200ppm.	5.83	40.83	1.7
T3 = Semilla imbibida en solución de ácido giberelico (AG ₃) a 100ppm.	0.00	9.10	0.35
T4 = Semilla imbibida en cinetina a 100ppm.	2.50	30	1.04

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

CONCLUSIONES

Los tres estratos (bajo, medio y alto) presentan diferente tipo de densidad de población y distribución de *Mammillaria plumosa*.

El estrato bajo presentó la mayor densidad (53.98 colonias/hectárea) y tendió a la agregación, el número de colonias se debió al tipo de sustrato donde se desarrollaron, a pesar de que existió disturbio por pastoreo.

En el estrato medio se encontró la menor densidad (3.05 colonias/hectárea), que correspondió a una distribución uniforme, por el disturbio que existe por el pastoreo, escasa vegetación y escaso afloramiento de roca madre, y por lo tanto existe mayor exposición del área afectando el establecimiento de nuevos individuos.

En el estrato alto la densidad fue (8.8 colonias/hectárea), presentó una distribución al azar, por diferente tipo de microclima o porque existió una preferencia altitudinal, tuvo menos colonias que el estrato bajo.

El fruto de *Mammillaria plumosa* mide 4.2 mm de longitud y 3.2 mm de espesor, es un fruto claviforme, desnudo, de color rosa castaño, blanquecina hacia su base y corteza delgada. Promedio de 24 semillas por fruto y peso promedio de 0.25 mg por semilla, testa foveolada, de color café oscuro a negro.

Para la germinación el mejor resultado se obtuvo en el tratamiento con nitrato de potasio a 200 ppm con 40.83% con una velocidad de 1.7 por ciento de germinación.

El tratamiento con ácido giberelico fue inhibitorio para la germinación de *Mammillaria plumosa*.

RECOMENDACIONES

- Para conocer mas acerca de una población es preciso monitorear en forma periódica el estado de conservación de las especies, donde deben de tomarse aspectos como dispersión y alteración de los ecosistemas.
- Controlar el comercio de plantas silvestres; propagando estas especies en invernaderos y/o cultivo de tejido, es como podría disminuir la sobrecolecta.
- Ser uno mas hacia la concientizacion de los recursos naturales en peligro de extinción.

RESUMEN

Esta investigación se realizó en dos fases, la primera en el campo cerca del poblado de Higuera, Municipio de Ramos Arizpe, Coahuila y la segunda en el laboratorio de Biotecnología del Departamento de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Los objetivos de la investigación fueron: conocer la densidad de población, el patrón de distribución espacial de las colonias en tres estratos y la capacidad de germinación *in-vitro* de *M. plumosa* (Weber)

El área muestreada se dividió en tres estratos (baja, media y alta) se tomó como estrato bajo las colonias ubicadas en la zona de ascenso. La parte plana llamada cuneta se consideró como estrato medio. El estrato alto fue la parte con mayor altitud del área muestreada. Donde se obtuvo mayor densidad de población de *M. plumosa* fue el estrato bajo con 53.98 col/ha.

La población de *Mammillaria plumosa* presentó los tres tipos de distribución; agregación en el estrato bajo, uniformidad en el estrato medio y al azar en el estrato alto, lo que implica que esta especie tiene factores preferenciales como sustrato y altitud.

En cuanto a las características del fruto, de *Mammillaria plumosa* mide 4.2 mm de longitud y 3.2 mm de espesor, es claviforme, desnudo, de color rosa castaño, blanquecina hacia su base y corteza delgada. Promedio de 24 semillas por fruto y un peso promedio de 0.25 mg por semilla, testa foveolada de color café oscuro a negro.

Para medir la capacidad de germinación *in-vitro*, las semillas se imbibieron en cada uno de los tratamientos; Testigo, Imbibición en agua estéril, KNO₃ a 200 ppm, AG3 a 100 ppm, y Cinetina a 100 ppm, por 48 horas, se utilizaron 10 semillas por tratamiento con 12 repeticiones. Mostrando como mejor tratamiento el nitrato de potasio a 200 ppm, alcanzando un por ciento de germinación de 40.83, mientras que el ácido giberélico a 100 ppm fue inhibitorio.

BIBLIOGRAFIA

- Bravo, H y H. Sánchez-Mejorada, 1978. Las cactáceas de México. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. 2ª ed. Vol. 1. 755pp.
- Bravo, H. y H. Sánchez-Mejorada. 1991. Las cactáceas de México. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. Vol. 3. 404pp.
- Besnier, R. F., 1989. Semillas Biología y Tecnología. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España. 637pp.
- Barbour M. G. Burk JH and Pitts WD. 1987. Terresties plant ecology. 2ª. Ed. The Benjamin/ cumming. Publishing Company Inc California. 622pp.
- Bewley, D.J. 1986. Membrana Changes in seed as related to germination and the perturbacion resulting from deterioration in storage” In título:Physiology of seed deterioration”. Mc Donald, M.B. Jr. y J. Nelson. Crop Science Society of American Inc. Madison, Wisconsin. USA.
- Castillo, M. M. 1996. Comparación de métodos de distancia para la determinación de densidad en arbustivas en un pastizal semiárido. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista Saltillo, Coahuila. 63pp.
- Clark P. J. y F.C. Evans . 1954. Distance to nearest neighbor as a measure of spatial relationships in populations. Ecology, Vol. 35 (4): 445-453.
- Del Castillo, R. 1987. Efectos del disturbio y la orientación de ladera en *Ferocactus histrix*. Cact. Suc. Mex.: 32:8-15

- Fearn, B. 1981. Seed germination: the modern approach. *The Cactus and Succulent Journal of Great Britain*, 43 (1): 13-16
- Franco, L. J. 1985. Manual de ecología. Ed. Trillas, México, D.F. 29pp.
- Freese F. 1970. Métodos estadísticos elementales para técnicos forestales . Servicio Forestal Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América. Centro Regional de Ayuda Técnica Agencia para el Desarrollo Internacional (AID) México/Buenos Aires.104pp.
- García, R. H. 1993. Estimulación de la germinación de cinco especies de cactáceas considerados en peligro de extinción. Tesis de Licenciatura. Instituto de Ciencia y Cultura, A.C. División de Ciencias Biológicas, Saltillo Coahuila, México. 60pp.
- Gouvêa, L. 1983. A germinação das sementes. Secretaria-Gral de Organização dos Estados Americanos, Washinton, D.C. 772pp.
- Heras, C. M. G., 1990. Germinación y cultivo de tejidos de especies cactáceas *in vitro*. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México. 88pp.
- Hill, T. A.1977. Hormonas reguladores del crecimiento vegetal. Ediciones Omega. Barcelona, España. 94pp.
- Hudson, T. H., 1985. Propagación de plantas principios y prácticas. Editorial C.E.C.S.A. México. 760pp.

- Hartman H. y Kester D. E. 1987. Propagación de plantas. Editorial Continental S.A de C.V México. 760pp.
- Innes C. and C. Glass. 1991. Cacti. Portland House. 320pp.
- Krulik G. A. 1981. Experiments whith seed germination. National cactus and Succulent Journal. 36:1 18-20
- Little, T. M. y Hills. F. 1989. Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. Segunda edición. Editorial Trillas. México. 270pp.
- Maguire, J. 1962. Speed of germinatination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Sci 2:176-177.
- Matteucci D.S.y A. Colma .1982. Metodología para el estudio de la vegetación. Secretaría General de la Organización de los Estados Unidos Americanos, Programa Regional Científico y Tecnológico. Washinton, D.C. 168pp.
- Moreno M. E. 1976. Manual para el Análisis de semillas. PRONASE. México. 197pp.
- Moreno P. N., J.J. López y L. Arce. 1992. Aspectos sobre las semillas y su germinación de *Echinomastus mariposensis* (Hester). Cact. Suc. Mex. 37: 21-27.
- Narro, F. E., 1994. Física de suelos. Editorial TRILLAS. Mexico, D.F. 192pp.
- Nava-Esparza, V.C. M. Chávez-Avila y V. M. Chávez-Avila. 1982. Cultivo de cactáceas en medio aséptico. Cact.Suc.Mex. 27:17-22.
- Odum P. E. 1987. Ecología. Tercera edición. Editorial Interamericana. México. 639pp.

- Peña-Yáñez J, M. Ramos-Parra,H. Silos-Espino, L.L. Valera-Montero, G. Tirado-Estrada. 1995. Evaluación de la germinación *in-vitro* de *Echinocactus* spp. y *Ferocactus* spp. II congreso Nacional de Biotecnología Agropecuaria y Forestal, Aguascalientes, Ags. México. p.53.
- Rabenda, I. 1990. Breaking dormancy in cactus seed. *Cactus and Succulent Journal*, 62 (2):86-94.
- Rabinovich, J.E. 1980. Introducción a la ecología de poblaciones animales. CNEB, CECSA, México. 313pp.
- Rojas Garcidueñas, M. 1978. Fisiología vegetal. M.C GRAW-HILL. México 294p.
- Salisbury, B. F., 1994. Fisiología vegetal. Editorial Iberoamérica S.A. de C.V. México, D.F. 759pp.
- Wehbe A.J. y J.L. Elizondo. 1986. Estudio Florístico de las cactáceas del Municipio de Ramos Arizpe, Coahuila. *Cact. Suc. Mex.*, 31: 97-101.

