

GERMINACIÓN IN VITRO DE *Mammillaria nivosa* Y *Mammillaria densispina*

María Elena Quintana-Sierra *, Gloria María Solares-Díaz, Reynoldez Vicente Barragán-Hidalgo

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM

*maquinsi88@gmail.com

Resumen

Las cactáceas son una familia representativa de México, el 57% de las especies son endémicas y el 30% se encuentran en estatus de riesgo. El género *Mammillaria* presenta el 90% de endemismo. Más del 50% de las especies de este género se encuentran en categoría de riesgo, ubicándolo como un grupo importante de estudio del cual es necesario generar información para coadyuvar a su conservación. La finalidad de este trabajo consistió en analizar la respuesta de germinación en condiciones *in vitro* de dos especies de *Mammillaria*. Las semillas de ambas especies se escarificaron con ácido sulfúrico (30%) para suavizar la testa; a continuación, se colocaron en frascos con medio de cultivo MS (Murashige and Skoog) al 25%, sin reguladores de crecimiento y carbón activado (0.05%). Los frascos fueron incubados a una temperatura de 26-28 °C, con un fotoperiodo de 16 horas luz, intensidad lumínica 1900-2300 lux a una distancia del material de 30 cm. El protocolo de desinfección resultó efectivo ya que no se presentó contaminación. La germinación en estas condiciones se observó a los 7 días en ambas especies registrando el 100% de la misma. Tanto la escarificación como el carbón activado permitieron un buen establecimiento *in vitro*. Fue indudable que las reservas del endospermo en las semillas fueron suficientes para iniciar y concluir el proceso de germinación y emergencia de las plántulas. El utilizar el medio MS al 25% y sin reguladores de crecimiento, permite la reducción de los

costos para su establecimiento por esta técnica. Las plántulas de ambas especies presentaron un buen desarrollo radicular, crecimiento hasta de 1 cm en promedio y un aspecto vigoroso. Al alcanzar este estado, las plántulas se transfirieron a medio fresco sin reguladores para estimular su crecimiento y desarrollo.

Palabras clave: Semillas, conservación, escarificación, especies en riesgo, recursos fitogenéticos.

Introducción

En la actualidad se reporta que las cactáceas están entre los grupos taxonómicos más amenazados evaluando hasta la fecha el 31% de 1,478 especies amenazadas como lo reportan Goettsch *et al.* (2015). El género *Mammillaria* representa el 24% de las cactáceas mexicanas, además presenta el 90% de endemismo. Más del 50% de las especies de este género se encuentran en categoría de riesgo, ubicándolo como un grupo importante de estudio del cual es necesario generar información para coadyuvar a su conservación (Bracamonte y Tinoco, 2015).

Mammillaria densispina, conocida como biznaga de espinas densas, es una planta simple o con ramificaciones por brotes laterales, tallo globoso o cilíndrico corto de hasta 10 cm de alto, flores de color amarillo con base verde, areolas ovadas con espinas de blanco a amarillo y semillas de 1 mm de largo de color castaño oscuro. Especie endémica de México, actualmente presenta una amplia distribución y no se conocen factores que afecten su sobrevivencia. Esta cactácea se caracteriza por su densa espinación generalmente de color amarilla, pero en ocasiones las espinas centrales son amarillas y las laterales color pardo rojo u oscuras. Pertenece al subgénero *Mammillaria*, sección *Hydrochylus* serie *Leptocladodae* (Arias y Aquino, 2019). En tanto que *Mammillaria nivosa* es un cactus solitario y

puede llegar a medir 40 cm de diámetro, tallo globoso a cilíndrico corto, espinas radiales y rectas de color amarillo, flores diurnas de color amarillo y semillas color marrón. En el año 2013 fue evaluada por la lista roja de la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza), siendo catalogada como preocupación menor (IUCN Red List, 2022).

Objetivo

Analizar la respuesta de germinación en condiciones de cultivo *in vitro* de *Mammillaria nivosa* y *Mammillaria densispina*.

Materiales y métodos

Para su establecimiento se siguieron los siguientes pasos:

Paso 1. Selección del explante. Los explantes consistieron en semillas de ambas especies, previo a la siembra fueron colocadas en una solución de ácido sulfúrico al 30% que las cubrió totalmente, ahí permanecieron por 15 minutos, se retiró la solución con la ayuda de una coladera, posteriormente se realizaron 3 lavados con agua corriente por 20 segundos para retirar el exceso de ácido (Figura 1).



Figura 1. Semillas de *Mammillaria densispina* (Reynoldez, 2022).

Paso 2. Protocolo de desinfección. Se desinfectaron las semillas en una solución de Carbendacim (fungicida Bencimidazólico) al 0.2% durante 15 minutos, posteriormente se colocaron en una solución jabonosa al 5% por 12 minutos, enseguida se colocaron en alcohol al 96% por 1 minuto seguido de una solución de hipoclorito de sodio al 25% a lo largo de 18 minutos y, finalmente, tres enjuagues con agua destilada estéril dentro de la campana de flujo laminar (Figura 2).



Figura 2. Semillas en solución desinfectante y campana de flujo laminar (Reynoldez, 2022).

Paso 3. Establecimiento in vitro. La siembra y el trasplante se realizaron en condiciones de asepsia en una campana de flujo laminar. El medio-base utilizado fue el MS (Murashige and Skoog) al 25% (Tabla 1).

Tabla 1. Composición del medio de cultivo utilizado.

Medio	MG
	Semillas
Sales MS %	25
Sacarosa gL ⁻¹	30
Gelificante g L ⁻¹	7.0
pH	5.8
Carbón activado g L ⁻¹	0.5
Esterilización	autoclave a 1.05 Kg cm ⁻² y 121 °C durante 15 min

Nota: MS= Murashige and Skoog (1962); MG= medio para germinación.

Paso 4. Incubación. Las condiciones de incubación fueron: 26 ± 2 °C de temperatura, fotoperiodo de 16 horas luz con una intensidad lumínica de 1900-

2300 luxes provenientes de lámparas led, con un consumo de 24 watts a una distancia del material de 30 cm.

Paso 5. Trasplante y mantenimiento. En esta etapa el material se mantuvo con trasplantes periódicos de 4 a 8 semanas, según la especie.

Las plantas se transfirieron a un medio fresco sin reguladores para fortalecer la raíz y la plántula para continuar en crecimiento activo.

Resultados y Discusión

La escarificación química mediante ácido sulfúrico y el tiempo de exposición no causó daños al embrión. Como es de esperar, el uso de agentes abrasivos como el ácido sulfúrico, desintegran parte de los compuestos lipídicos de la testa (láminas de suberina y depósitos de lignina) como lo reporta Uribe *et al.* (2022). La presencia de proteínas en la testa favorece la incorporación de agua al interior de la semilla y activan los procesos metabólicos de las células del embrión, conduciendo a la aceleración de las dos primeras fases de la germinación, que es la imbibición y la activación del metabolismo celular (Grajales, 2004). Las especies en estudio registraron el 100% de germinación, lo cual es un indicativo de que el embrión no fue dañado y que el tiempo de exposición fue suficiente para acelerar la germinación, como lo reportan Navarro *et al.* (2008) en un estudio realizado en dos especies de *Mammillaria*, donde la escarificación no afecta el porcentaje final de germinación, pero si la velocidad. El protocolo de desinfección fue muy efectivo ya que no se presentó contaminación durante el establecimiento, tanto la concentración como el tiempo fueron adecuados para reducir en un 100% la contaminación durante el establecimiento. Las semillas iniciaron la germinación a los 7 días alcanzando el 100% de germinación 15 días después, a diferencia de Ruíz *et al.* (2011), quienes obtuvieron el 81% de germinación después de 23 días

en cactáceas. Las plántulas registraron una respuesta morfo genética aceptable, ya que presentaron un buen desarrollo radicular, areolas bien formadas, espinas evidentes y alcanzaron 1 cm de altura (Figura 3).

El medio de cultivo utilizado tuvo dos características importantes, una de ellas es que una plántula al emerger no demanda grandes cantidades de nutrientes exógenos, por lo que el medio base MS se utilizó al 25%, permitiendo que las semillas de las cactáceas en estudio usaran sus propias reservas, lo que reduce costos para su establecimiento; resultados similares fueron observados por Ramírez *et al.* (2019). La segunda característica del medio fue el uso de carbón activado, ya que este adsorbe el gas etileno generado evitando una intoxicación en la plántula, ya que los componentes que conforman la testa comienzan a oxidarse y promueven la biosíntesis del etileno (Uribe *et al.*, 2022). Convenientemente, la implicación del establecimiento *in vitro* abre pauta a la estandarización del protocolo de clonación posterior, que permitirá realizar ensayos de mejoramiento genético a través de la mutagénesis radio inducida.



Figura 3. Plántulas de *Mammillaria densispina* (Quintana, 2022).

Conclusión

El protocolo de desinfección aplicado en estas especies fue efectivo, pues no permitió contaminación en el establecimiento *in vitro*. El uso del medio de cultivo al 25% no interfiere en las etapas de germinación y de emergencia de plántula, generando una reducción de costos en procesos de establecimiento. El uso de carbón activado se considera crucial en el establecimiento *in vitro* inhibiendo la proliferación de gas etileno que pudiera afectar las fases de germinación y emergencia de plántula. La germinación se logró en 7 días alcanzando el 100% a los 15 días, mejorando el tiempo con respecto a otros reportes. Las plántulas obtenidas presentaron características morfogénicas normales durante su crecimiento *in vitro* alcanzando 1 cm de altura en 6 meses.

Referencias

Arias, S. & Aquino, D. (2019). *Flora del Bajío y Regiones Adyacentes. Familia Cactácea 1*. Fascículo 209. Instituto de Ecología A. C. Centro Regional del Bajío, Pátzcuaro, Michoacán, México. 137-140 pp.

Bracamonte, T.J.A. & Tinoco, O. C. (2015). El género *Mammillaria*. *Nuestra Tierra*, 23: 18-19.

Grajales, M.O.M.M. (2004). *Fisiología Vegetal*. Editorial FES-Cuautitlán. México. 86 pp.

Goettsch, B., Cruz, P.G., Hilton, T.C. & Philip, D.J. (2015). High proportion of cactus species treated with extinction. *Nature Plants*, 1-7.

Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 73-497.

Navarro, C.M.C., Cervantes, O.G., & Lázaro, C.J.O. (2008). Efecto de la escarificación de semillas en la germinación de dos especies de *mammillaria*. *Zonas Áridas*, 12(1): 97-115.

Ramírez, G.G., Rodríguez, D.J.L., Martínez, S.J. & Colinas, L.M.T. (2019). Germinación y Crecimiento *ex vitro* e *in vitro* de cinco especies de cactáceas del género *Mammillaria*. *POLIBOTÁNICA*, (48): 99-110.

Ruiz, G.S.P., Rojas, A.M. & Mandujano, M.C. (2011). Descripción morfológica y germinación de las semillas de *Echinomastus unguispinus*. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 56: 36-44.

The IUCN Red List of Threatened Species. 2022-I. Recuperado el 24 de 08 del 2022 de <https://www.iucnredlist.org/es/>

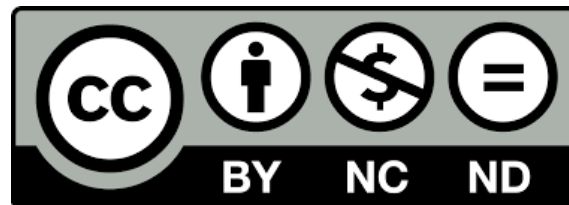
Uribe, S.Y., Quintanar, I.A., Barbosa, M.C., Flores, J., & Jiménez, S.C.L. (2022). Morfoanatomía, Histoquímica y germinación de las semillas de *Mammillaria parkinsonii* Ehrenb. (Cactaceae). *POLIBOTÁNICA*, (53): 119-134.



D. R. © UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

Excepto donde se indique lo contrario esta obra está bajo una licencia Creative Commons Atribución No comercial, No derivada, 4.0 Internacional (CC BY NC ND 4.0 INTERNACIONAL).

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



ENTIDAD EDITORA

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

Av. Universidad 3000, Universidad Nacional Autónoma de México, C.U., Delegación Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México.

FORMA SUGERIDA DE CITAR:

Quintana-Sierra, M. E., Solares-Díaz, G. M., y Barragán-Hidalgo, R. V. (2022). Germinación in vitro de *Mammillaria nivosa* y *Mammillaria densispina*. *MEMORIAS DEL CONGRESO NACIONAL DE TECNOLOGÍA (CONATEC)*, Año 5, No. 5, septiembre 2022 - agosto 2023. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM.

https://tecnicosacademicos.cuautitlan.unam.mx/CongresoTA/memorias2022/mem2022_CartelPaper3.html