

Universidad Central “Marta Abreu” de las Villas
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Carrera de Ingeniería Agronómica



Influencia de la luz y la temperatura en la germinación de la semilla de las especies
Melocactus actinacanthus*, *M. quitartii* y *Mammillaria prolifera* subsp. *prolifera

Tesis para aspirar al título de Ingeniero Agrónomo

Diplomante: Alberto Isidro Torres Bilbao

Tutores: M. Sc. Idelfonso Castañeda Noa

Dr. Charlotte Seal

Dr. Tiziana Ulian

Santa Clara, 2014

A mi abuela, que ya no está..., que estará siempre.

Agradecimientos

Para expresar mis agradecimientos tendría que mencionar a muchas personas y también instituciones y me parece que la mejor forma sería yendo de lo general a lo particular y así no correr el riesgo de extraviarme en el proceso, aunque sí me temo que será un poco extenso.

En primer lugar me gustaría agradecer a mis padres por traerme al mundo, de otro modo esta oportunidad nunca hubiera existido, a mi hija, a mis hermanos, y a todos mis familiares por estar siempre conmigo.

A mi país, a mi universidad y a todos los profesores que han hecho posible que yo llegue a este punto.

A la Empresa de Flora y Fauna, donde por primera vez encaminé mis pasos en la conservación.

Al Millennium Seed Bank por facilitarme los recursos para desarrollar mi investigación.

A Jesús Matos Mederos, que me abrió las puertas a este mundo de la flora, que fue y es un ejemplo a seguir por su dedicación y entrega y que es y será siempre mi mejor amigo.

A la Dr. Tiziana Ulian; por su ayuda incondicional, por su amistad a toda prueba. Sin ella no hubiera llegado nunca a realizar este proyecto. No tendría palabras para expresarle mi eterno agradecimiento.

A mi esposa por creer en mí y animarme siempre.

A mis supervisores la Dr. Charlotte Seal del Banco de Semillas del Milenio y a mi tutor, Msc. Idelfonso Castañeda del Jardín Botánico de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas por toda su ayuda.

A mis amigos: Manuel, Yudiesky, Jorge, Felicia, Marleny, Yomeidy, Iliana y a todos los que de forma directa o indirecta me acompañaron durante estos años de estudio.

Resumen

Se analizaron las características morfológicas de las semillas y los efectos de la temperatura y la luz en la germinación de *Melocactus actinacanthus* Areces, *M. quitartii* León, y *Mammillaria prolifera* (Mill) Haw. subsp. *prolifera* (Cactaceae). Sobre la morfología de la semilla en cada una de las especies se tuvo en cuenta el tamaño, la forma, escultura de la testa y color. Se determinó la viabilidad de la semilla por medio de la prueba de Tetrazolium y se aplicaron experimentos para analizar las temperaturas cardinales y la influencia de la luz en la germinación. Como característica general, en las tres especies objeto de estudio las semillas son pequeñas; sin embargo, la forma, la escultura de la testa y el color son aspectos que varían en cada una de ellas. El porcentaje estimado de viabilidad obtenido en la prueba de Tetrazolium se comportó de forma diferente en cada una de las especies; corresponde a *Melocactus quitartii* la más alta proporción de semillas viables. Se corrobora que alrededor de los 25 °C, las tres especies objeto de estudio alcanzan los máximos porcentaje de germinación. En *Melocactus actinacanthus* la temperatura óptima donde se alcanza la mayor velocidad de germinación es 29,8 °C. Se demostró que cada una de las especies son fotoblásticas positivas.

Tabla de contenido	Pág.
Capítulo 1. Introducción	1
Problema científico	2
Hipótesis	2
Objetivos	2
Capítulo 2. Revisión bibliográfica	3
2.1 Distribución y características de la familia <i>Cactaceae</i>	3
2.2 Características de los géneros estudiados; particularidades de las especies objeto de estudio	3
2.2.1 Género <i>Melocactus</i> Link & Otto.	3
2.2.1.1 <i>Melocactus actinacanthus</i> Areces	3
2.2.1.2 <i>Melocactus gutartii</i> León	4
2.2.2 Género <i>Mammillaria</i> Haw.	5
2.2.2.1 <i>Mammillaria prolifera</i> (Mill) Haw. subsp. <i>prolifera</i>	5
2.3 Características de las semillas de las cactáceas	6
2.4 Aspectos generales sobre germinación de la semilla	7
2.4.1 Temperatura	8
2.4.2 Luz	10
Capítulo 3. Materiales y métodos	12
3.1 Caracterización morfológica de las semillas	13
3.2 Determinación de la masa de la semilla	14
3.3 Determinación de la viabilidad de la semilla	14
3.4 Germinación a diferentes temperaturas para <i>Melocactus actinacanthus</i>	15
3.5 Análisis de la germinación luz <i>versus</i> oscuridad	18
Capítulo 4. Resultados y discusión	20
4.1 Caracterización de las semillas	20

4.1.1 Caracterización de la semilla de <i>Melocactus actinacanthus</i>	20
4.1.2 Caracterización de la semilla de <i>Melocactus quitartii</i>	20
4.1.3 Caracterización de la semilla de <i>Mammillaria prolifera</i> subsp. <i>prolifera</i>	20
4.2 Análisis de los estudios de viabilidad de las semillas	21
4.3 Resultados y análisis de la germinación en <i>Melocactus actinacanthus</i> a diferentes temperaturas	23
4.4 Análisis de la germinación en la luz <i>versus</i> oscuridad	26
4.5 Tiempo promedio de germinación en la luz	27
Conclusiones	29
Recomendaciones	30
Referencias Bibliográficas	
Anexos	

Capítulo 1: Introducción

La familia *Cactaceae*, una de las más interesantes que viven en zonas áridas y semiáridas, se caracteriza por la gran cantidad de adaptaciones a la escasez de agua, en correspondencia con las condiciones extremas de su hábitat. En general, las especies de esta familia tienen gran valor como alimento, medicinal, propósitos ceremoniales y ornamentales, lo que ha llevado a que sean recolectadas de forma excesiva en su ambiente natural; este hecho, unido a la destrucción de sus hábitats ha provocado que muchos taxones hayan sido juzgados de preocupación para la conservación.

La Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN), como también Berazaín *et al.* (2005), en la Lista roja de la flora vascular cubana, han categorizado a muchas especies de cactus con alto riesgo de extinción inmediato si no se toman medidas urgentes para su conservación. Todo ello implica que las cactáceas está incluida en las listas de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas (CITES). En particular las que corresponden al Apéndice I, donde se incluyen a las especies que poseen una distribución muy restringida y que están amenazadas por su recolecta o uso horticultural.

Las islas del Caribe tienen una flora de cactus relativamente pequeña, con la excepción de Cuba y la Española donde están bien representados (Oldfield 1997). En Cuba, la familia *Cactaceae* cuenta con 50 especies nativas (Rodríguez 2005, Hunt *et al.* 2006). Estas especies se encuentran distribuidas principalmente en los ecosistemas costeros y afloramientos del eje serpentínico, donde en la mayoría de los casos presentan una distribución restringida; por otro lado, las actividades humanas como la minería, la agricultura, el pastoreo, el desarrollo de infraestructura para el turismo, el fuego y las excavaciones de canteras, han disminuido dramáticamente las poblaciones de estas especies (González-Torres, 2007).

En Cuba Central, *Melocactus actinacanthus* Areces, *Melocactus quitartii* León y *Mammillaria prolifera* (Mill) Haw. subsp. *prolifera*, se encuentran bajo riesgos de extinción; estas especies aunque ocurren en localidades legalmente protegidas, ciernen

sobre ellas el peligro de afectaciones por la acción antrópica, la erosión de los microhábitat en que se encuentran, los incendios fortuitos y la extracción de individuos por coleccionistas; de allí la necesidad de aplicar técnicas de propagación que garanticen el reforzamiento de las poblaciones de estas especies u otras técnicas de conservación, que minimicen las presiones que se ejercen sobre ellas.

Problema científico

El estatus de amenaza que presentan *Melocactus actinacanthus*, *M. quitartii* y *Mammillaria prolifera* subsp. *prolifera* por efectos de la acción antrópica y la erosión de los microhábitat, requieren la aplicación de técnicas de propagación que garanticen el reforzamiento de las poblaciones de estas especies u otras técnicas de conservación, que minimicen las presiones que se ejercen sobre ellas.

Hipótesis

Si se conoce como influye la luz y la temperatura en el proceso de germinación de la semilla de los cactus estudiados, entonces se puede obtener un mayor éxito en la propagación de estas especies para su conservación.

Objetivo General

Determinar la influencia de la luz y la temperatura sobre la germinación de la semilla de las especies *Melocactus actinacanthus*, *M. quitartii* y *Mammillaria prolifera* subsp. *prolifera*; para garantizar el éxito en su propagación.

Objetivos específicos:

- Caracterizar la morfología de la semilla de las especies *Melocactus actinacanthus*, *M. quitartii* y *Mammillaria prolifera* subsp. *prolifera*.
- Estimar el porcentaje de germinación aplicando prueba de Tetrazolium.
- Determinar el efecto de la temperatura y la luz sobre la germinación de la semilla de las especies *Melocactus actinacanthus*, *M. quitartii* y *Mammillaria prolifera* subsp. *prolifera*.

Capítulo 2: Revisión bibliográfica

2.1 Distribución y características de la familia *Cactaceae*

La familia *Cactaceae* está compuesta por más de 1400 especies, predominantemente localizada a lo largo de vastas áreas de América del Norte y América del Sur, con la única excepción de la especie *Rhipsalis baccifera* (J. S. Muell.) Stearn, la cual se encuentra en África Tropical, Madagascar, en las islas del Océano Índico y Sri Lanka; donde debe haber llegado principalmente por la dispersión a través de las aves (Anderson 2001). Esta familia está conformada en su mayoría por plantas suculentas sin hojas, de tallos usualmente espinosos, con estructuras únicas llamadas areolas de las cuales emergen espinas; sus flores son generalmente solitarias, grandes y llamativas, de ovario ínfero, con numerosas piezas en el perianto; los frutos son carnosos y presentan numerosas semillas de fácil dispersión (Gentry 1993).

2.2 Características de los géneros estudiados; particularidades de las especies objeto de estudio

2.2.1 Género *Melocactus* Link & Otto.

Las especies del género *Melocactus* están constituidas por plantas solitarias, de hábito deprimido-globosas a cilíndricas, normalmente con menos de 1 m de alto, con presencia de cefalio. El número de costillas varían de 8 a 27, en posición vertical; las espinas, entre 3 y 21 unidades en cada areola, donde las centrales se encuentran poco diferenciadas de las radiales. Las semillas tienen forma globosas a ovaladas; son pequeñas y negras, con relieve plano a fuertemente convexo-cónico, y la cutícula puede ser estriada o no (Hunt *et al.* 2006).

2.2.1.1 *Melocactus actinacanthus* Areces

De acuerdo con Tylor (1991) y Hunt *et al.* (2006) el nombre de la especie *M. actinacanthus* Areces es sinónimo de *Melocactus matanzanus* León. Sin embargo, (González-Torres 2007), plantea los individuos de ambas especies tienen características

morfológicas que diferencian claramente a cada población sin superposición, por lo que deben ser tratadas como diferentes.

Esta especie alcanza hasta 8 cm y 12 cm de diámetro; 8-9 acostillada; areolas algo juntas, espinas amarillentas, las radiales 7-8, extendidas, de hasta 2,5 cm, carente de espina central. Flores de 1,7 cm de largo, rosadas; estambres numerosos; radios del estigma 4-5. Fruto en baya tipo claviforme, de 1,5 cm; semillas negras (Areces 1976), (Fig. 1). Esta especie es exclusiva de la provincia de Villa Clara; Sierra Alta de Agabama; en el matorral xeromorfo espinoso sobre serpentina. Está categorizada como En Peligro Crítico (CR) (Berazaín *et al.* 2005, González-Torres 2007).



Fig. 1. *Melocactus actinacanthus* Areces

2.2.1.2 *Melocactus quitartii* León

De acuerdo a Hunt *et al.* (2006), el término *Melocactus quitartii* León y *M. holguinensis* Areces están incluidos en *M. curvispinus* Pfeiff; sin embargo, Rodríguez (2005), mantiene a *M.* como una buena especie, la que constituye una unidad de conservación con una población bien definida y ecología diferente a la de *M. curvispinus* y *M. holguinensis*.

Esta especie alcanza hasta 11 cm y 15 cm de diámetro; 12 acostillada, costillas de 2 cm; areolas algo distantes, espinas amarillentas, las radiales 9-10, de hasta 2,5 cm, las centrales 2, de 3-3,5 cm. Flores de 3-4 cm de largo, rosadas; pétalos alrededor 22, oblongo-lineales; estambres numerosos; radios del estigma 5. Fruto en baya tipo

claviforme, de 3-4 cm; semillas brillantes (León, 1946) (Fig. 2). Esta especie se distribuye en la provincia de Sancti Spíritus, en afloramientos de diorita en Dagamal (área protegida), Piedra Gorda, La Rana, Tramojos y Manaquitas (Hernández *et al.*, 2005). Está categorizada como En Peligro Crítico (CR) (Berazaín *et al.* 2005, González-Torres 2007).



Fig. 2. *Melocactus quitartii* León

2.2.2 Género *Mammillaria* Haw.

Mammillaria agrupa a especies con hábito simple o ramoso, a veces forman montículos de hasta un metro de diámetro, y pueden ser casi geófitas; las ramas son depresas-globosas o globosa a cilíndrica, tuberculadas; los tubérculos son de forma teretes, cónicos, piramidales o gibosos, no hendido; las areolas son bipartitas, con la parte apical y axilar discreta sin interconexión hendida. Las flores axilares y solitarias, mayormente pequeñas de forma campanuladas a cuneiformes. Los frutos son oblongo o clavado, a menudo de color rojo brillante; las semillas son medianas de 0,6-3 mm, la testa negra o marrón, si son negras entonces las células aparecen hendidas. (Hunt *et al.* 2006).

2.2.2.1 *Mammillaria prolifera* (Mill) Haw. subsp. *prolifera*

Esta especie forma usualmente densos amontonamientos; las ramas son de forma globosa a cilíndrico-clavado, tuberculadas; las axilas se presentan más o menos desnudas o con finos pelos blancos tan largos como los tubérculos; las espinas centrales

alcanzan entre 4-12 y 4-9 mm, estas son de forma esbeltas, aciculares, rectas, puberulentas, de color blancas a amarillas o rojizas; las espinas radiales se entrelazan con las centrales en forma de celdas a pelos. Flores de color crema o amarillo-rosáceas. Fruto de hasta 2 cm, clavado cilíndrico, de color rojo; las semillas negras. (Hunt *et al.* 2006), (Fig. 3). Se encuentra ampliamente distribuida desde el sur y este de Texas hasta el noreste y este de México y el Caribe. En Cuba esta especie crece en laderas soleadas de mogotes en Pinar del Rio, en el Parque Nacional Viñales (Borhidi 1991), Sancti Spíritus (Hernández *et al.* 2005), Camagüey (Rifá 2005) y en Villa Clara, según Castañeda (com. pers.), en Mogotes de Jumagua, Sagua La Grande y Serranía del Purio, en Encrucijada; también en bosques secos del sur de la costa de Guantánamo (González-Torres 2007). Esta especie está categorizada como Vulnerable (VU) según (Berazaín *et al.* 2005).



Fig. 3. *Mammillaria prolifera* (Mill) Haw. subsp. *prolifera*

2.3 Características de las semillas de las cactáceas

En *Cactaceae*, las semillas se caracterizan por la diversidad de forma, tamaño, estructura de las cubiertas, características del embrión, y color de la testa (Yang 1999, Anderson 2001). El embrión es usualmente curvo, y el tejido nutritivo es el perispermo, derivado del tejido nucelar diploide del ovario más que del endospermo triploide. Los cotiledones, comparados con muchos de los embriones de otras plantas, son reducidos;

el hilum o punto de unión del funículo es usualmente prominente en la mayoría de los miembros de la subfamilia *Cactoideae* y está fundido con la región micropilar en un complejo llamado la región hilum-micropilar. Algunas semillas de cactus presentan un arilo o estrófilo, el cual es un crecimiento que envuelve la región hilum-micropilar (Anderson 2001).

Según Seal *et al.* (2009), las semillas son particularmente importantes como el primer paso en la producción de la próxima generación de plantas. En las cactáceas, el reclutamiento depende de una serie de factores, que incluyen los requerimientos ambientales para la germinación y el establecimiento de las plántulas; por ejemplo: temperaturas extremas por debajo de 12 °C y por encima de 28 °C no favorecen la germinación de estas (Fearn 1981, Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes 2000).

La magnitud de las fluctuaciones diarias de temperatura puede estar influenciada por las condiciones del microhábitat; un ejemplo de esto lo constituyen las plantas nodrizas, las que generalmente ofrecen protección contra la excesiva radiación solar, esto puede resultar en un menor valor de fluctuación de la temperatura y mayor disponibilidad de humedad, cada uno de estos factores pueden favorecer la germinación y el crecimiento de las plántulas. Los cactus columnares tienden a proveer más sombra que los globosos y favorecer estas condiciones. Consecuentemente, la germinación y el establecimiento de los cactus globosos se espera que sea más tolerante a las temperaturas extremas (Rojas-Aréchiga 1998).

2.4 Aspectos generales sobre germinación de la semilla

La germinación de la semilla comprende una serie de procesos, que comienzan con la imbibición de agua y culmina con la emergencia de la plántula a través de las cubiertas (García-Agustín & Primo-Millo, 1996). Según estos autores, este proceso desencadena una secuencia de cambios metabólicos, que incluyen la activación de la actividad respiratoria, la síntesis proteica y la movilización de las reservas; a su vez, la división y alargamiento celular en el embrión produce la rotura de las cubiertas de las semillas, que generalmente es ocasionada por la emergencia de la radícula.

La germinación en sentido estricto no incluye el crecimiento de la plántula, que comienza cuando termina la germinación; por lo tanto, es incorrecto, equiparar la germinación con el surgimiento de las plántulas del suelo, ya que la germinación ha terminado unos días antes de que la planta sea visible. Sobre este aspecto Yang (1999), plantea que los fisiólogos no comparten esta definición, por lo que su uso está muy difundido entre los tecnólogos de semillas.

Para que la germinación pueda ocurrir es necesario que se den algunos factores externos como son: un sustrato húmedo, suficiente disponibilidad de oxígeno que permita la respiración aerobia y una temperatura adecuada para los distintos procesos metabólicos y para el desarrollo de la plántula. Sin embargo, las semillas de muchas especies permanecen en estado de latencia y son incapaces de germinar, incluso cuando se encuentran en condiciones consideradas favorables. La salida del estado de latencia requiere, en determinados casos, algunos estímulos ambientales después de la maduración de la semilla, tales como la luz o bajas temperaturas. En otros casos, las gruesas cubiertas de las semillas constituyen una barrera impermeable al agua y los gases ejerciendo una resistencia física a la expansión del embrión, que impide la germinación (García-Agustín & Primo-Millo 1996).

2.4.1 Temperatura

Fearn (1981), plantea que en muchas especies de plantas la temperatura es el principal factor que afecta la tasa y el porcentaje de germinación, donde se ha demostrado que pequeñas diferencias de temperaturas pueden cambiar grandemente la respuesta de germinación. Por otro lado, se refiere que semillas de diferentes especies y edades también germinan en varios rangos de temperatura (Fearn 1974, 1981); también (Fearn 1981), plantea que es razonable asumir que estas respuestas son adaptativas, y que el éxito o el fracaso de una población de una especie en una localidad particular depende de que su respuesta de germinación coincida con las condiciones ambientales prevalecientes.

Yang (1999), analiza los efectos de la temperatura en la germinación de la semilla y plantea que a bajas y altas temperaturas se obstaculiza la germinación; la exacta

sensibilidad a la temperatura y el rango de temperaturas en el que germinen las semillas es muy diferente según la especie; también, un aumento en la temperatura no necesariamente causa un incremento en la tasa de germinación o en su porcentaje, aunque dentro de cierto rango (usando como base la temperatura óptima de germinación), esto puede ocurrir.

La temperatura óptima de germinación probablemente refleja el clima del hábitat en el que crece la planta (Yang 1999); también plantea que la germinación en su conjunto, no se caracteriza por un simple coeficiente de temperatura; este aspecto se puede entender si se comprende que la germinación es un proceso complejo y que un cambio en la temperatura afectará cada uno de los pasos individualmente, de modo que el efecto de la temperatura que se observa sólo refleja el efecto global resultante. En el rango de temperatura dentro del cual una determinada semilla germina hay por lo general, una temperatura óptima para la germinación final; a temperaturas por debajo o por encima de esta se reduce el nivel de germinación.

Baskin & Baskin (1998), muestra que la temperatura óptima de germinación para 21 especies de cactus de 14 géneros varía entre 15 °C y 35 °C. Yang (1999), encontró que en siete especies de cactus evaluadas, el rango de temperatura óptima de germinación fue entre 26 y 31 °C. Arias & Lemus (1984), determinaron un rango de germinación para *Melocactus caesius* H. L. Wendl. entre 22 y 43 °C para semillas almacenadas y un rango entre 20 y 45 °C para semillas recién extraídas. En general, muchos experimentos de laboratorio y de vivero han demostrado que la germinación de la semilla de los cactus es más alta, cerca de 25 °C de temperatura (Gibson & Nobel, 1986). Según Nobel (1988), la mayoría de las plantas del desierto germinan en un amplio rango de temperatura; sin embargo, entre 15 y 25 °C se presenta el porcentaje máximo de germinación.

Fearn (1981), realizó un estudio detallado en 20 especies de cactáceas; este sugiere que la temperatura de alrededor de 20 °C determina buenos porcentajes de germinación en un rango amplio de géneros. Por otra parte autores como Dau & Labouriau (1974), Martínez-Holguín (1983), Cota Sánchez (1984) y Del Castillo (1986), plantean que para semillas de cactáceas, el rango de temperaturas favorable se encuentra entre 17 y 34 °C

con un valor óptimo frecuente de 25 °C. En algunas especies de cactus, la germinación es reducida en un 50 % cuando la temperatura disminuye o se incrementa 9 °C desde la temperatura óptima (Nobel 1988).

En relación a la temperatura constante o alterna, varios estudios han demostrado que pueden desempeñar un papel importante en la germinación de las semillas (Probert 1992, Rojas-Aréchiga *et al.* 2001). También, Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes (2000), plantean que en algunas especies que habitan en zonas áridas, las fluctuaciones de temperatura aumentan la germinación de las semillas, aunque no se ha mostrado diferencias significativas en comparación a los tratamientos a temperaturas constantes.

La capacidad de las semillas para responder a la alternancia de temperaturas, se ha relacionado con adaptaciones fisiológicas que permitan la germinación en el mejor sitio para el establecimiento de la plántula, sea en espacios abiertos *versus* la sombra de las plantas o las rocas (Probert 1992). Muchas de las especies que habitan en ambientes áridos muestran altos porcentajes de germinación a temperaturas alternantes (Mahmoud *et al.* 1983, 1984). Sin embargo, la mayoría de las investigaciones de los efectos de la temperatura en semillas de cactus se han realizado sólo a temperatura constante. El impacto de la alternancia de temperatura sobre la germinación de las semillas de cactus puede ser negativo, neutral o positivo en función del estudio y de las especies (Godínez-Álvarez & Valiente-Banuet 1998, Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes 2000), aunque las causas de esta variación no han sido aclaradas. La magnitud de las fluctuaciones de la temperatura diurna puede estar influida por las condiciones de microhábitat. En relación a este aspecto, la germinación de las semillas de los cactus globosos y el establecimiento de las plántulas podría ser más tolerante a temperaturas extremas (Yang *et al.* 2003).

2.4.2 Luz

Rojas-Aréchiga *et al.* (1997) señala que *Cactaceae* es una de las familias menos estudiada en cuanto a la germinación de sus semillas entre las plantas perennes del desierto. Los efectos de la luz, en la inducción a la germinación de semillas de cactus se han demostrado en *Carnegiea gigantea* (Engelm.) Britton & Rose (Alcorn & Kurtz 1959), *Stenocereus Thurberi* (Engelm.) Buxb. (McDonough 1964), *Melocactus cassius*

Went (Arias & Lemus 1984), *Pilocereus arrabidae* (Lem.) Byles & Rowley (Dau & Labouriau 1974), y *Stenocereus griseus* (Haw.) Buxb. (Martínez Holguín 1983); sin embargo, las semillas de *Pereskia aculeata* Mill., son indiferentes a la luz a temperaturas cercanas a su temperatura óptima de germinación (Dau & Labouriau 1974).

Estos estudios señalan requerimiento de luz para inducir la germinación de las semillas. Fearn (1981), encontró que la mayoría de los miembros de la familia *Cactaceae* son sensibles a la luz; esto quiere decir que no germinarán a menos que sean iluminadas en su estado hidratado. Hay algunas pruebas de que las semillas de especies de cactus columnares, que suelen ser mayores y más pesadas que las de las especies de cactus globosos, son indiferentes a la luz, es decir, que germinan tanto en presencia como en ausencia de esta (Rojas-Aréchiga *et al.* 1997); no obstante, las semillas más pequeñas y ligeras de las especies de forma globosas parecen necesitar luz como estímulo para la germinación.

Rojas-Aréchiga *et al.* (1997), encontró que para siete especies de cactus el máximo porcentaje de germinación fue obtenido usando luz blanca seguido por luz roja, sin que se encontraran diferencias significativas; sin embargo, para algunas de las especies, el porcentaje de germinación, fue significativamente menor en luz rojo lejano que en los de color rojo y blanco. No existe información detallada acerca de cómo las semillas de cactus reaccionan a la luz en términos de latencia.

Sobre la influencia de la luz en la germinación de la semilla, resulta interesante que en un estudio de especies herbáceas de clima templado Milberg *et al.* (2000), mostraron que la influencia de la luz en la germinación es mucho más fuerte en semillas pequeñas que en especies de semillas grandes. En consecuencia, sugirieron que la respuesta a la luz y la masa de las semillas co-evolucionaron como una adaptación para garantizar que la especie con semilla pequeña sólo pueda germinar cuando está cerca de la superficie del suelo. Del mismo modo, un estudio sobre las semillas de las especies pioneras neotropicales, también ha encontrado fuerte dependencia de la luz en las especies de semillas pequeñas y la falta de esa dependencia en especies de semillas grandes (Jankowsaka-Blaszczuk & Daws (2007).

Capítulo 3. Materiales y métodos

Para la realización de los experimentos se utilizaron semillas de tres especies de cactus, dos de ellas cultivadas en el Tropical Nursery del Royal Botanic Garden Kew (RBG, Kew): *Melocactus actinacanthus* y *M. quitartii*; las semillas de la otra especie, que corresponde a *Mammillaria prolifera subsp. prolifera*, fueron recolectadas en el Parque Nacional Jaragua. Municipio Oviedo en República Dominicana. Las semillas fueron recolectadas de frutos maduros sobre la planta: *Melocactus quitartii* 18/6/2009; *M. actinacanthus* 2/2/2012 y *Mammillaria prolifera subsp. prolifera* 19/1/2012.

Después de extraídas de los frutos, las semillas fueron lavadas con agua corriente para eliminar el mucílago restante, secadas a la sombra y almacenadas en bolsas de papel a temperatura ambiente. Las semillas recolectadas fueron enviadas a los laboratorios del “Millennium Seed Bank” (MSB) de RBG Kew, donde se realizaron los experimentos. Antes de comenzar con los experimentos las semillas, se mantuvieron por siete días en un cuarto de secado a una temperatura de 15 °C (± 3) y humedad relativa (HR) de 15 % (± 5). Este procedimiento permite reducir el contenido de humedad de la semilla y con esto retardar el envejecimiento de las mismas y por tanto alargar su viabilidad (Ellis *et al.* 1998).

El trabajo se llevó a cabo desde el 28 de febrero hasta el 4 de abril de 2012. Para la caracterización de las semillas en cuanto a tamaño, forma, color y escultura de la testa, estas fueron fotografiadas y medidas utilizando para ello un microscopio-estereoscopio, con una cámara digital acoplada y el software AxioVision (30, Zeiss, Alemania).

A continuación se realizaron los experimentos de Tetrazolium (Tetrazolium test), de germinación a diferentes temperaturas y de germinación luz *versus* oscuridad. Como metodología para la realización de estos experimentos se utilizó el “Protocolo de Germinación para Semillas de Cactáceas” propuesto por Seal *et al.* (2009). En la tabla 1 se ofrece el número de semillas empleadas y los diferentes experimentos aplicados en los estudios de cada especie. En los análisis correspondientes, se utilizó como esquema experimental el Diseño Completamente Aleatorio (DCA).

Tabla 1: Experimentos realizados por cada especie: Peso de las semillas (P); Tetrazolium test (Tz); Germinación a diferentes temperaturas (Gdt); Germinación luz *versus* oscuridad (G.L/O); Estudio de imágenes al microscopio-estereoscopio con fotografía digital (Fd).

Especie	Nº semilla	P	TZ (%)	G.dt	G.L/O	Fd
<i>M. quitartii</i>	150	√	√		√	√
<i>M. actinacanthus</i>	1200	√	√	√	√	√
<i>M. prolifera</i>	150	√	√		√	√

3.1 Caracterización morfológica de las semillas

Se tomaron 10 semillas de cada especie para hacer la caracterización de las mismas. Los aspectos analizados son: tamaño (largo y ancho), la forma, escultura de la testa y el color; según los criterios de Barthlott & Hunt (2000), para cactáceas:

Tamaño las semillas

Categoría	Medida (mm)
Extremadamente grandes	4,0-4,8 mm
Muy grandes	3,0-3,9 mm)
Grandes	2,0-2,9 mm
Medianas	1,2-1,9 mm
Pequeñas	0,9-1,1 mm
Muy pequeñas	0,3-0,8 mm

Forma las semillas

Valores de proporción	Forma
< 1,09	Circular/orbicular
1,10-1,49	Amplia oval/ovoide/oboval
1,50-1,99	Oval
2,00-3,00	Estrechamente oval

Aspecto externo de la cubierta seminal

Color	Lustre	Escultura de la testa
Negras	Brillantes	Rugosas
Negro-marrón	Semi-opacas	Ruminadas
Marrón	Opacas	

3.2 Determinación de la masa de la semilla

Se tomó la masa (mg) a 25 muestras de 5 semillas cada una ($n=25$) para lo cual se usó una balanza de alta precisión marca METTLER TOLEDO (Fig. 4).



Fig. 4. Balanza de precisión de 4 lugares.

3.3 Determinación de la viabilidad de la semilla

El *test* de Tetrazolium es un método destructivo utilizado para estimar la viabilidad de las semillas (AOSA 2008). En el experimento se colocaron 30 semillas de cada especie en placas de Petri de 9 cm de radio; estas se colocaron en una incubadora SACHWELL (Fig. 5), y fueron expuestas a una atmósfera saturada al 100 % de humedad relativa (RH) a 20 °C por 24 h, utilizando luz blanca, la intensidad de flujo fotónico de 50-85 W/m² y el fotoperíodo de ocho y 16 h. Pasadas las 24 horas se transfirieron a placas de Petri con agar al 1% y se incubaron por 3 días a 20 °C.

Este procedimiento se realiza con el objetivo de activar el tejido de las semillas, pero evitando que la imbibición sea demasiado rápida, lo cual dañaría a los tejidos del embrión. Luego se practicó un corte transversal en la testa para exponer los tejidos del embrión; estas se sumergieron en una solución de 2, 3, 5 triphenyl tetrazolium chloride

al 1% y se incubaron en la oscuridad con doble envoltura en láminas de aluminio a 30 °C por 48 horas, utilizando una incubadora LMS 600, con densidad de fluido 50-85 W/m². Al término de este período las semillas fueron lavadas con agua destilada y se observaron a través del estereoscopio-microscopio marca Vision Engeneering para determinar la viabilidad de las semillas según los criterios de AOSA (2008): el tejido vivo se tiñó de rojo o rojizo, mientras que el tejido muerto no se tiñó o mostro un color ligero o manchas, estas semillas no son viables.



Fig. 5. Incubadora SACHWELL.

3.4 Germinación a diferentes temperaturas para *Melocactus actinacanthus*

Dada la limitada disponibilidad del uso de la incubadora, así como el alto número de semillas requeridas para completar el diseño experimental (1050 semillas), es que se realiza este experimento solo en esta especie, de las tres que ocupan el estudio; para ello se tomó en consideración que se trata de la especie con más altos riesgos identificados en su estatus de amenaza.

Todas las pruebas de germinación se llevaron a cabo en placas de Petri estériles, de 5 cm de diámetro, con agar al 1% en agua destilada. En este estudio, la duración del período de germinación fue de 35 días. Esta fecha es tomada como fin del experimento debido a que la curva de germinación de las especies no mostraba incremento y se mantenía horizontal por un tiempo sostenido.

Se montaron tres réplicas con 25 semillas cada una; se utilizó una placa de termogradiente con 14 niveles de temperatura constante. Esta placa de termogradiente es una incubadora especialmente diseñada con licencia de la Universidad de Reading Reino Unido (Fig.), que consiste en una placa que se ajusta a 14 diferentes temperaturas constantes: cada hilera de placa de Petri se ajusta a una temperatura diferente y un fotoperíodo ajustable en dependencia de la especie que se esté experimentando, teniendo en cuenta los patrones de luz del hábitat natural, en este caso 12 horas.

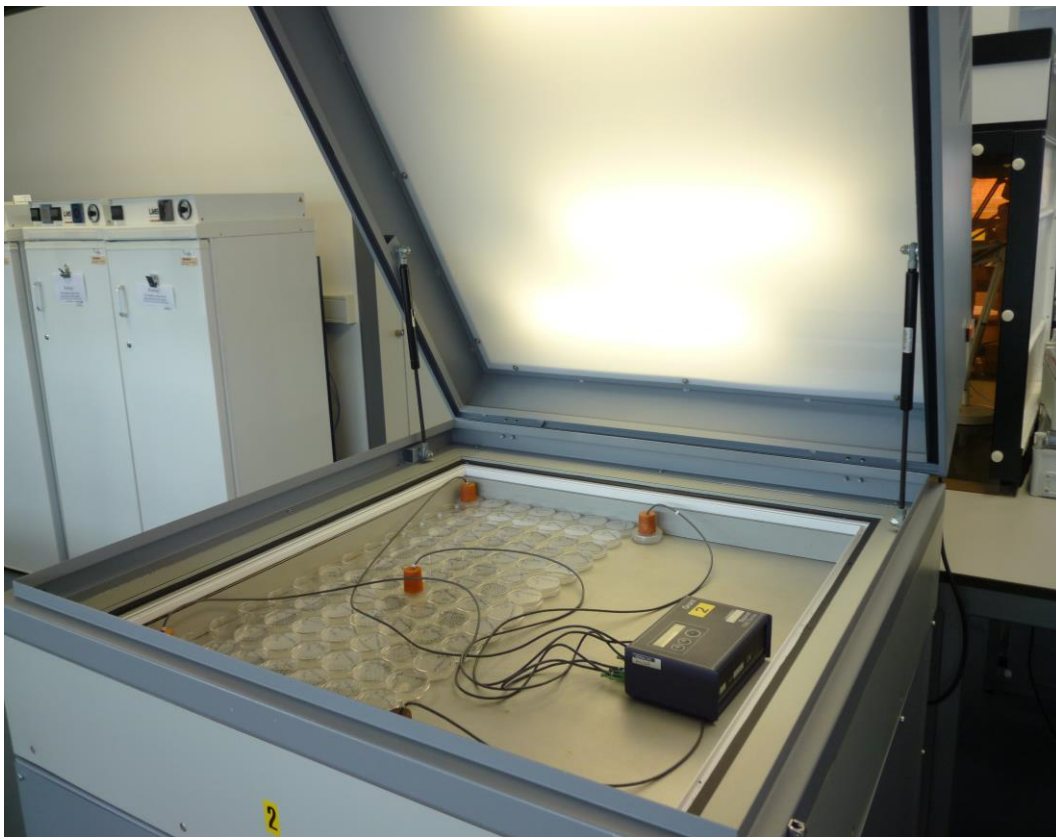


Fig. 6. Placa de termogradiente para 14 temperaturas constantes.

La temperatura fue registrada durante los 35 días que duró el experimento cada 10 minutos en 5 puntos diferentes de la placa de termogradiente; para ello se utilizaron sensores diseñados para estos efectos dando un total de 5040 registros por cada sensor. Los 5 sensores se ubicaron cada uno dentro de una placa de Petri estéril con agar al 1%; estas placas fueron cambiadas al primer signo de desecación. Con los valores obtenidos,

se realizó una relación lineal entre el número de fila y la temperatura ($^{\circ}\text{C}$) generando la temperatura promedio para cada fila. (Tabla 2)

Tabla 2. Temperatura en la placa del termogradiente.

Fila	Temperatura $^{\circ}\text{C}$	Fila	Temperatura $^{\circ}\text{C}$
1	6.64	8	23.5
2	9.05	9	25.9
3	11.5	10	28.3
4	13.9	11	30.7
5	16.3	12	33.1
6	18.7	13	35.5
7	21.1	14	38

Para simular las condiciones de luz, todas las semillas fueron expuestas a un fotoperiodo de 12 horas bajo una luz fluorescente blanca con una densidad de flujo fotónico de 50 W/m^2 . La germinación quedó definida con la emergencia de la radícula de 2 mm. El número de semillas germinadas se registró diariamente alrededor de la misma hora; y el agar fue reemplazado al primer signo de secado (ISTA 2007).

Las semillas no germinadas fueron diseccionadas y observado el estado del embrión a través de un microscopio estereoscópico marca Vision Engineering; este procedimiento apoya los resultados de la prueba de Tetrazolium.

Para calcular los porcentajes de germinación en esta especie se trazaron curvas progresivas para cada régimen de temperatura. Posteriormente, se estimó el tiempo (t) para alcanzar el 50 % de la germinación final en cada temperatura (t_{50}) y se calculó el recíproco ($1/t_{50}$) contra la temperatura siguiendo los criterios de Bewley & Black (1994). La velocidad para los tratamientos donde no se registró germinación fue considerada como cero. Se estimó la regresión lineal usando estos valores para determinar la temperatura base (T_b), debajo de la cual el $1/T_{50}$ es cero y la temperatura máxima (T_m) sobre la cual el $1/T_{50}$ es cero, de acuerdo con Covell *et al.* (1986). La

temperatura óptima (T_o) se estimó por la intercepción de ambas regresiones lineales según Hardegree (2006).

Para evaluar la respuesta de las semillas a los tratamientos de temperatura se determinó el porcentaje de germinación. Estos valores fueron transformados al arcoseno de la raíz cuadrada, según Zar (1999), antes de someterlos a análisis de varianza, utilizando el programa ANOVA. Se usó la Diferencia Mínima Significativa (LSD) para estimar la diferencia entre los tratamientos ($p < 0.05$). Los datos son representados como promedio $\pm$ el error estándar (SE).

3.5 Análisis de la germinación luz *versus* oscuridad

Para el ensamble del experimento se utilizaron 150 semillas de cada especie estudiada, con las cuales se montaron tres réplicas con 25 semillas cada una, las que se colocaron en placas de Petri estériles de 9 cm de radio; estas bajo condiciones de iluminación (incubadora LMS 600, con densidad de fluido 50-85 W/m², (Fig. 7). Para el experimento en la oscuridad, se montaron tres réplicas con 25 semillas cada una; para ello se utilizó una doble envoltura en lámina de aluminio. Para ambos experimentos se utilizó una temperatura constante de 25 °C, que es la temperatura alrededor de la cual se logran los mejores porcentajes de germinación en suculentas perennes; así como un fotoperiodo de 12 horas.

A continuación, las placas de Petri en las réplicas expuestas a la luz, se transfirieron a una cámara de flujo de aire laminar para realizar las observaciones diarias sobre la germinación; sobre las réplicas sometidas a la oscuridad se tomaron los datos después de concluido el experimento de germinación a los 35 días.

El análisis de la germinación relativa a la luz (RLG) fue calculada por la fórmula:

$$RLG = L/L+D$$

Donde, L= Total de semillas germinadas en la luz y D= Total de semillas germinadas en la oscuridad de acuerdo con Flores *et al.* (2011).

El tiempo promedio para la germinación (MTG) se calculó por la fórmula:

$$MTG = \Sigma (D n) / \Sigma n.$$

Donde D= número de días desde el comienzo de la germinación, y n= número de semillas germinadas en el día, según los criterios de Yang *et al.* 2003.

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statgraphics Centurion XV, versión 15, 1,02, Statistical Graphics Corporation, Graphic Software System.



Fig. 7. Incubadora LMS 600 graduada a 25 °C.

Capítulo 4. Resultados y discusión

4.1 Caracterización de las semillas

4.1.1. Caracterización de la semilla de *Melocactus actinacanthus*

Las semillas son medianas, de 1,2-1,9 mm, orbiculares; de $1,2 \pm 0,05$ mm de largo y $1,06 \pm 0,05$ mm de ancho; la testa negro mate y escultura ruminada o rugosa (Fig. 8 A). El peso promedio de las semillas fue de $0,500 \pm 0,067$ mg.

4.1.2 Caracterización de la semilla de *Melocactus gutartii*

Las semillas son pequeñas de 0,9 – 1,1mm, ampliamente oval; de $1,1 \pm 0,06$ mm de largo y $0,9 \pm 0,08$ mm de ancho; la testa negro brillante y la escultura de la testa rugosa (Fig. 8 B). El peso promedio de las semillas fue de $0,412 \pm 0,41$ mg.

4.1.3 Caracterización de la semilla de *Mammillaria prolifera* subsp. *prolifera*

Las semillas son medianas de 1,2-1,9 mm, oval; de $1,3 \pm 0,08$ mm de largo y $0,9 \pm 0,06$ mm de ancho; la testa negro mate y la escultura hendida (Fig. 8 C). El peso promedio de las semillas fue de $0,563 \pm 0,072$ mg.

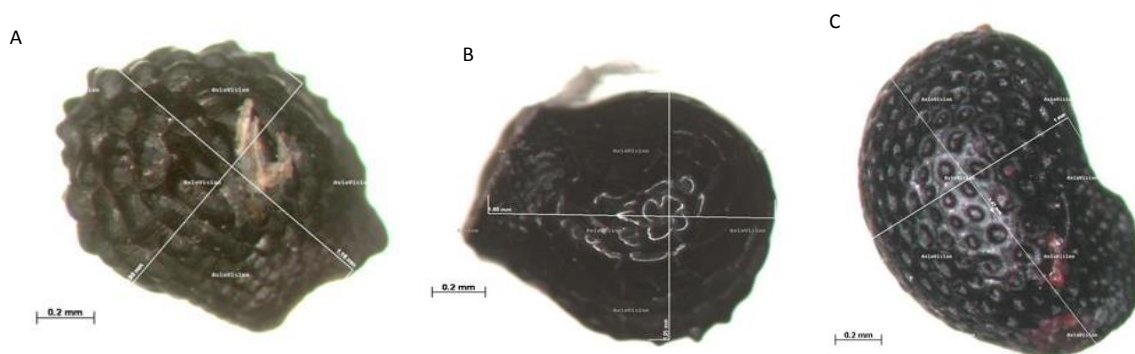


Fig. 8. Aspecto de las semillas observadas a través del microscopio-estereoscopio, con ejes de medición (largo y ancho). La escala señala 0.2 mm. (A). *Melocactus actinacanthus*, (B). *M. gutartii*, (C). *Mammillaria prolifera* subsp. *prolifera*.

Estos resultados sobre morfología de la semilla constituyen aspectos novedosos en el conocimiento de cada una de las especies; además, evidencian patrones diferentes entre

ellas, los cuales pueden tener valor taxonómico corroborando lo planteado por Barthlott & Hunt (2000), para los géneros y especies de *Cactaceae* en general.

El tamaño y el peso de las semillas en estas especies, las ubican en la categoría de semillas pequeñas, lo que le confieren la posibilidad de ser dispersadas por diferentes grupos de animales como son las hormigas, las aves, los murciélagos y algunos otros grupos de mamíferos, los cuales en ocasiones mediante el proceso de endozocoría facilitan la escarificación de las cubiertas seminales facilitando la germinación. En el caso de las hormigas, estas pueden transportar las semillas a sus nidos donde les proporcionan un microhábitat apropiado para la germinación y el establecimiento de las plántulas.

Las características de las semillas en estas especies pudieran determinar que correspondan a la categoría de semillas ortodoxas, lo que les permite formar bancos de semillas en el suelo y germinar cuando las condiciones ambientales sean propicias.

4.2 Análisis de los estudios de viabilidad de las semillas

La viabilidad de las semillas, estimada por las pruebas del tetrazolium (Tz) no coincide con los porcentajes finales de germinación obtenidos.

Melocactus quitartii tuvo la más alta proporción de semillas viables, seguida por *M. actinacanthus* y por último *Mammillaria prolifera* subsp. *prolifera* (Fig. 9). Todas las especies mostraron una proporción de semillas sin colorear alta y en cuanto a las demás categorías: menos coloreadas (M.C), vacías (V), semillas podridas (S. P) se comportan y distribuyen indistintamente entre las diferentes especies. La (Fig. 10) muestra las distintas coloraciones adquiridas por los embriones en esta prueba.

La especie *Melocactus quitartii*, presenta un porcentaje de germinación por debajo de los obtenidos en las pruebas de Tz; esta diferencia puede explicarse por la existencia de semillas latentes, cuya latencia puede estar provocada por la presencia de compuestos inhibitorios en la testa, o por inmadurez embrional; tal como lo plantea Arias & Lemus (1984), donde probaron la presencia de estos compuestos en *Melocactus caesius*; por

otro lado, puede estar relacionado a la necesidad de un tiempo post cosecha para completar la maduración, como lo refiere Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes (2000). De acuerdo a los resultados obtenidos en esta prueba de viabilidad el porcentaje de germinación inferior al resultante de la prueba de Tz podrían estar dado porque las semillas que fueron recolectadas en el año 2009 aún no han alcanzado la madurez total, lo que puede corroborar lo planteado por Del Castillo (1986), sobre la buena viabilidad después de 5 años en especies de *Melocactus*.

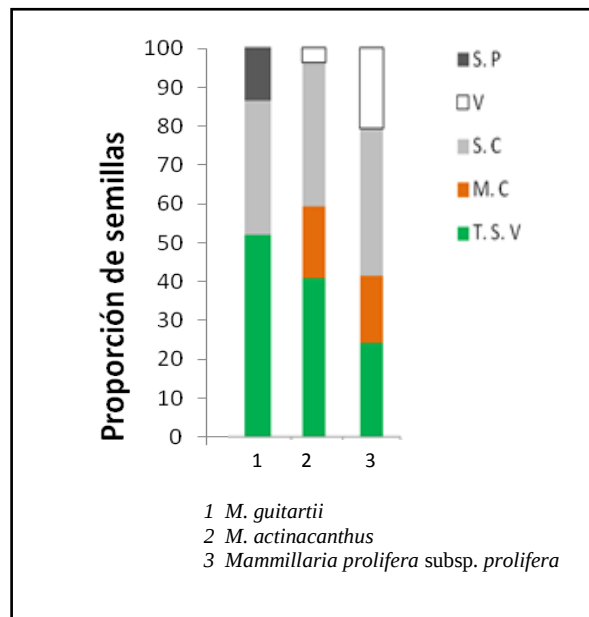


Fig. 9. Resultados de las pruebas de tetrazolium realizadas a 28 semillas de *M. actinacanthus*, *M. quitartii* y *Mammillaria prolifera* subsp. *prolifera*. Total de semillas viable (T.S.V), Menos coloreadas (M.C), Sin colorear (S.C), Vacías (V), Semillas podridas (S.P).



Fig. 10. Diferentes coloraciones adquiridas por los embriones en la prueba de Tetrazolium. La escala señala 0,2 mm.

En el caso de las especies *Melocactus actinacanthus* y *Mammillaria prolifera* los porcentajes de germinación fueron más altos que los resultados obtenidos en la prueba de Tz. Este resultado puede relacionarse a la presencia de aceites en las semillas, que dificultan la penetración del tetrazolium dentro del embrión, corroborando lo demostrado por Wood *et al.* (2012), para tres especies con contenidos de aceite > 20 % y una especie con contenido entre 10 y 20 % cuyos porcentajes de germinación fueron superiores a la viabilidad encontrada en la prueba Tz.

4.3 Resultados y análisis de la germinación en *Melocactus actinacanthus* a diferentes temperaturas

Esta especie tiene un gran rango de germinación (Fig. 11). Las semillas comenzaron a germinar al tercer día después de instalado el experimento en un rango de temperaturas que va desde 25,9 hasta 38 °C, obteniéndose el mayor número de semillas germinadas para ese día en las temperaturas 28,3 y 30,7 °C respectivamente. Las temperaturas extremas alcanzaron menor o ninguna germinación.

El análisis estadístico muestra que existe diferencia significativa ($P < 0,05$), pero de los cinco grupos homogéneos presentes solo se separa significativamente el grupo que corresponde a las temperaturas más bajas (6,6, 9,05 y 11,5 °C), donde no hubo germinación, o esta fue extremadamente baja; luego al practicar el corte de las semillas expuestas a esta temperatura se pudo comprobar que existía una proporción de semillas viables de 81,3 % para la temperatura 6,6 °C; de 65,3 % para la temperatura 9,05 °C y de 57 % para la temperatura 11,5 °C. El porcentaje de germinación más alto alcanzado fue de 82,7 % para las temperaturas 18,7 y 28,3 °C, aunque hay que destacar que para la temperatura más baja 18,7 °C, este porcentaje de germinación se alcanzó en un mayor plazo de tiempo.

Entre las temperaturas 16,3 y 30,7 °C, el porcentaje de germinación oscila alrededor del valor máximo alcanzado (82,7 %), sin presentar diferencias significativas y este disminuye paulatinamente hacia los otros dos extremos. Se observa que en la temperatura 30,7 °C existe una confluencia de los tres grupos homogéneos restantes;

alrededor de esta temperatura se obtuvo el valor óptimo para la germinación de la especie en el ($1/T_{50}$).

La temperatura a la cual se encontró la velocidad máxima de germinación ($1/T_{50}$) no coincide con el máximo de germinación obtenida, esta fue utilizada para determinar las temperaturas cardinales de germinación: temperatura mínima (T_b), temperatura óptima (T_o) y temperatura máxima (T_m), utilizando para ello un análisis de regresión lineal. La figura. 12, muestra las correlaciones obtenidas para el rango sub-óptimo; por ejemplo, de temperatura mínima a temperatura óptima, y para el rango supra-óptimo, de temperatura óptima a temperatura máxima; la temperatura óptima se obtiene al igualar las ecuaciones anteriores.

El análisis de este modelo permite estimar la temperatura cardinal mínima ($9,4^{\circ}\text{C}$), a partir de la cual la velocidad de germinación comienza a subir hasta el punto óptimo ($29,8^{\circ}\text{C}$), y entonces comienza a disminuir hasta el punto de máxima temperatura ($47,3^{\circ}\text{C}$).

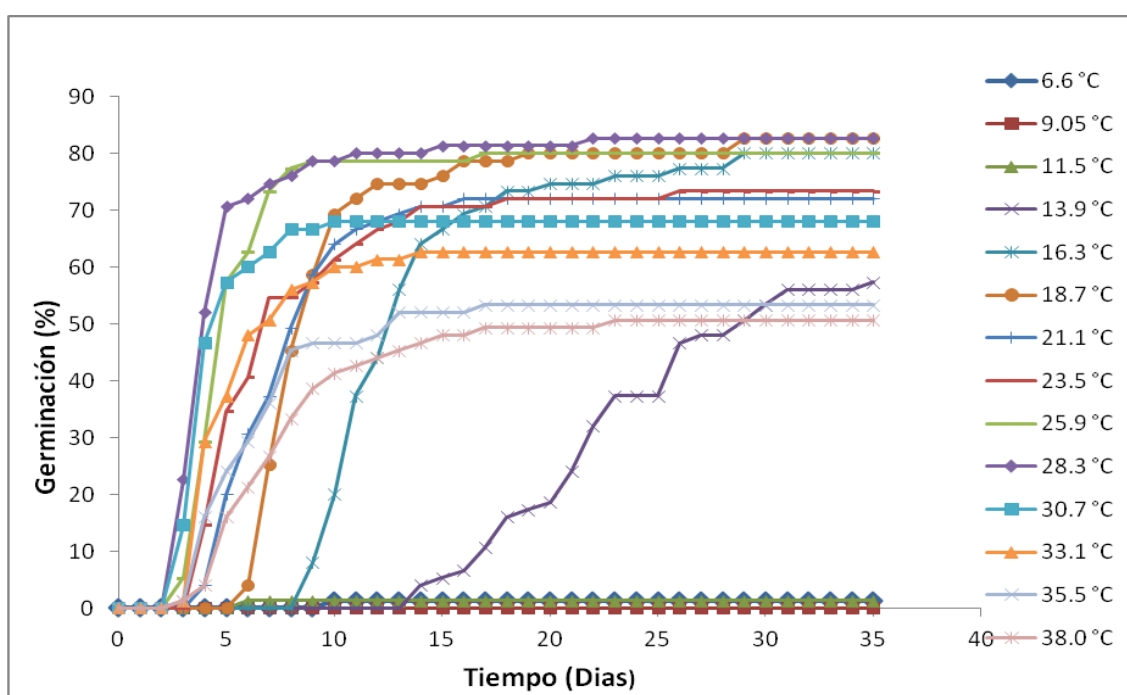


Fig. 11. Germinación de *M. actinacanthus* a 14 temperaturas constantes y 12 h fotoperíodo (3 réplicas de 25 semillas). No se grafican las desviaciones estándar para que el gráfico se pueda observar con mayor claridad.

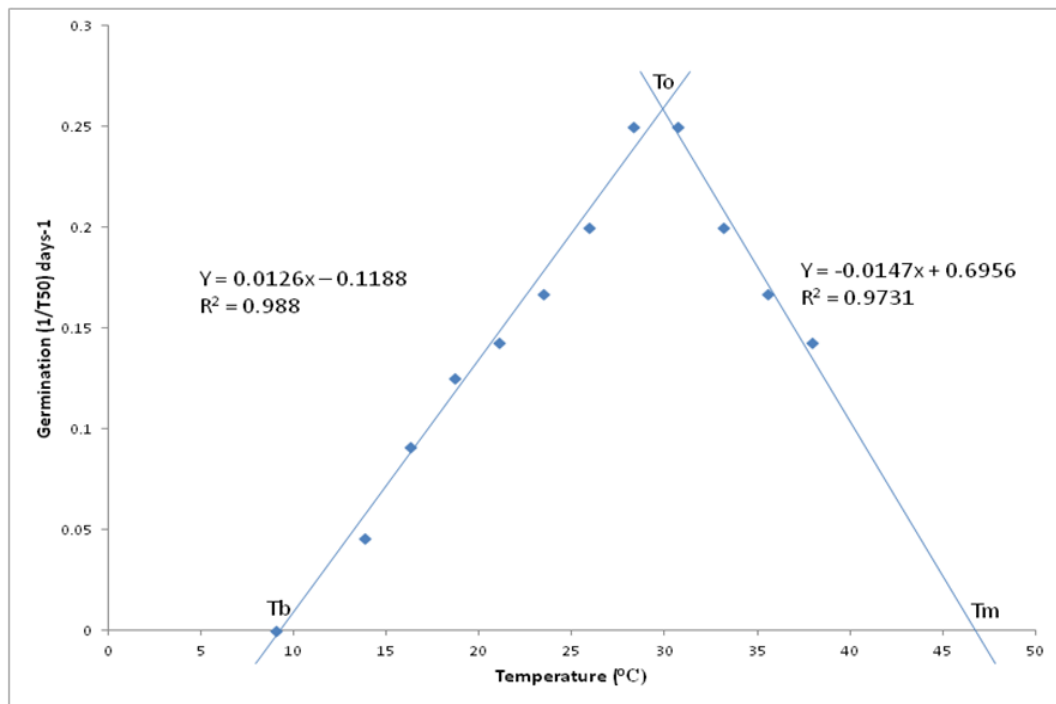


Fig. 12. Tasa de germinación (1/T50) de *M. actinacanthus* a 14 temperaturas constantes y 12 h de fotoperiodo (3 réplicas de 25 semillas).

De acuerdo al modelo seguido, las semillas de *Melocactus actinacanthus* germinan en un rango de temperatura constante de 9,4 a 47,3 °C y una temperatura óptima de 29,8 °C. Este resultado se corresponde con lo planteado por Alcorn & Kurtz (1959), Dau & Labouriau (1974), Martínez-Holguín (1983), Cota Sánchez (1984), Del Castillo (1986), Nobel (1988) y Rojas-Aréchiga *et al.* (1998), sobre el rango de valores óptimos de temperatura para la germinación de la semilla en diferentes especies de cactáceas, el cual puede variar entre 17 y 34 °C, con un valor frecuente de 25 °C. La temperatura óptima obtenida para esta especie coincide con el (1/T₅₀) y no con la temperatura donde se alcanzó el máximo porcentaje de germinación; no obstante, estos valores están dentro del rango de temperatura citada por estos autores.

La germinación, a diferencia de la estimación del modelo empleado para el análisis, solo fue significativa a partir de 13,9 °C; por debajo de esta temperatura no hubo germinación o fue extremadamente baja. Este resultado indica que probablemente las semillas requieran de un mayor tiempo para germinar a temperaturas más bajas, lo que se pudo corroborar por el porcentaje de semillas que aún permanecían viables en dichas temperaturas; o sea, se obtiene el efecto inverso al planteado por Rojas-Aréchiga &

Vázquez-Yanes (2000), quienes plantean que el tiempo para completar la germinación decrece a medida que se incrementa la temperatura.

Las temperaturas donde se encontraron los mayores porcentajes de germinación para *Melocactus actinacanthus* (82,7 %) fueron 18,7 y 28,3 °C. Este resultado es un reflejo de las condiciones climáticas del hábitat de la especie, donde la temperatura 18,7 °C puede ser frecuente en los meses más secos y fríos; en tanto, que temperaturas alrededor de los 30 °C son frecuentes en los meses más cálidos del año, lo que concuerda con lo planteado por Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes (2000), sobre el amplio rango de germinación de las cactáceas.

4.4 Análisis de la germinación en la luz *versus* oscuridad

La figura. 13 muestra los porcentajes de germinación de las especies bajo condiciones de iluminación.

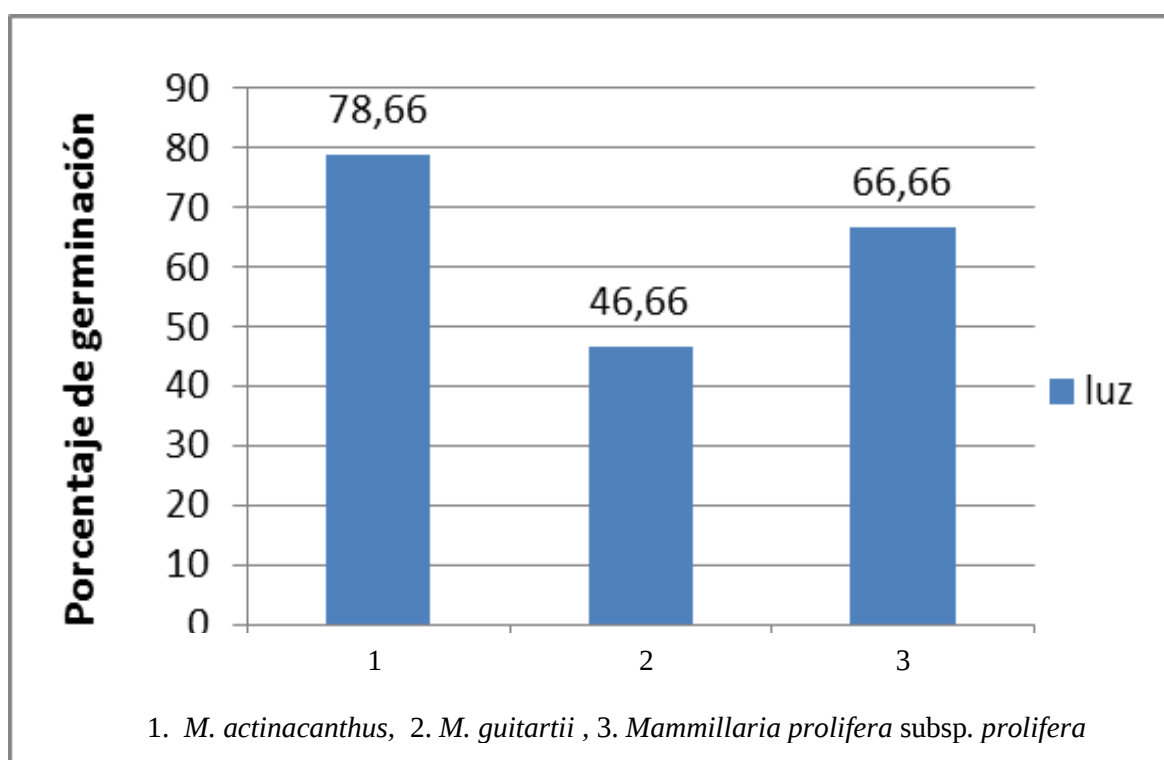


Fig. 13. Porcentaje de germinación bajo condiciones de iluminación de 3 réplicas (25 semillas) en semillas de *M. actinacanthus*, *M. gutartii*, y *Mammillaria prolifera* subsp. *prolifera*.

Los valores obtenidos (1,0), al aplicar la fórmula $RLG = L/L+D$, que se refiere al análisis de la germinación relativa a la luz, evidencian que todas las especies presentan fotoblastismo positivo. Este aspecto guarda relación con lo planteado por Rojas-Aréchiga *et al.* (1997), sobre la forma de vida globosa en las cactáceas, que caracteriza a las especies objeto de estudio, y los requerimientos de luz en la germinación de sus semillas.

Por otro lado, las semillas pequeñas con pesos inferiores a 1 mg, tal como se presentan en cada una de las especies objeto de estudio, puede relacionarse a la necesidad de luz para su germinación, tal como lo plantea Milberg *et al.* (2000) y Flores & Jurado (2011). Este aspecto puede explicarse si se tiene en cuenta lo expresado por Milberg *et al.* (2000) acerca de que la respuesta a la luz y la masa de las semillas co-evolucionaron como una adaptación para garantizar que la especie con semilla pequeña sólo pueda germinar cuando está cerca de la superficie del suelo.

4.5 Tiempo promedio de germinación en la luz

La especie que mostró el menor tiempo promedio de germinación (MTG) fue *Melocactus actinacanthus*, seguidas por *Mamillaria prolifera* subsp. *prolifera* y por último, *Melocactus quitartii* (Fig. 14).

Sobre este aspecto, se corrobora lo planteado por Fenner & Thompson (2005), al referirse que el tamaño de la semilla está relacionado con el tiempo de germinación, dado la disponibilidad de nutrientes que estas poseen.

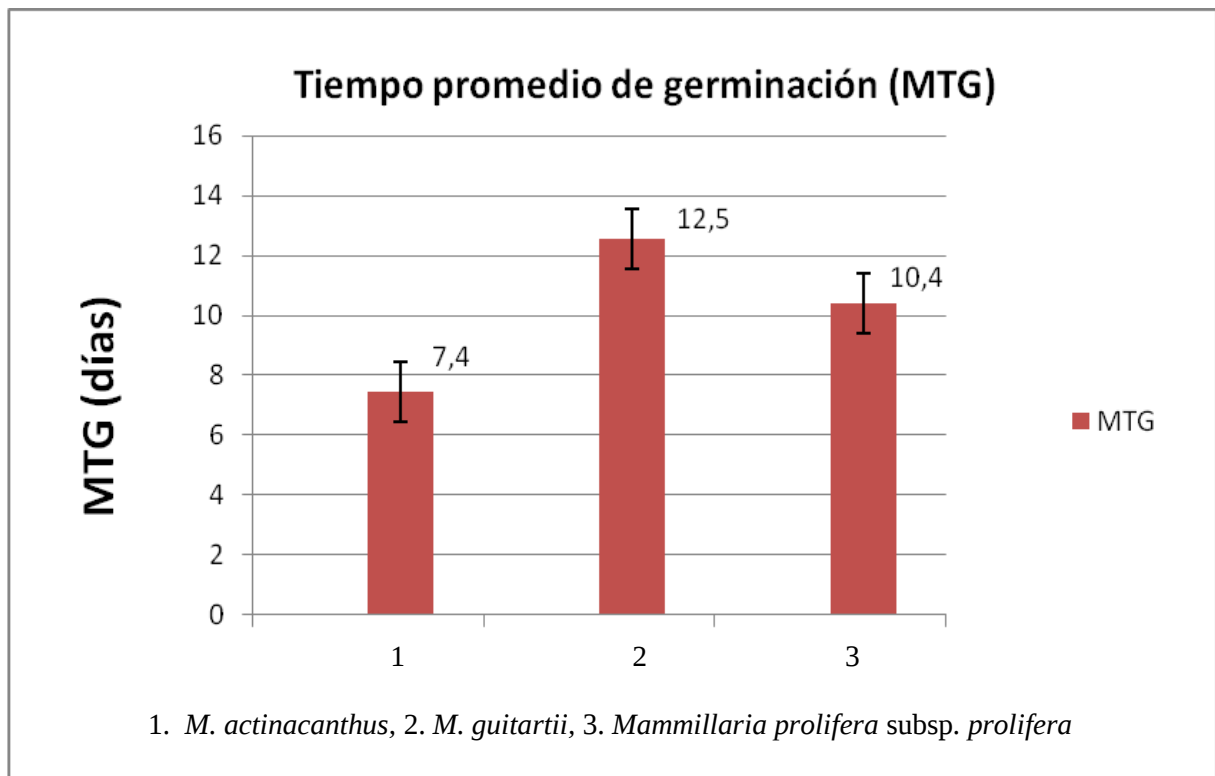


Fig. 14. Tiempo Promedio de Germinación (MTG) realizado a 3 réplicas con 25 semillas cada una a temperatura 25 °C, expuestas a la luz de *M. actinacanthus*, *M. guitartii* y *Mammillaria prolifera* subsp. *prolifera*; las barras muestran la desviación estándar.

Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo se puede arribar a las siguientes conclusiones:

1. En *Melocactus actinacanthus* Areces, *Melocactus guitartii* León y *Mammillaria prolifera* (Mill) Haw. subsp. *prolifera*, las semillas son pequeñas; sin embargo, la forma, la escultura de la testa y el color son aspectos que varían en cada una de las especies.
2. El porcentaje estimado de viabilidad obtenido en la prueba de Tetrazolium se comportó de forma diferente en cada una de las especies; corresponde a *Melocactus guitartii* la más alta proporción de semillas viables.
3. Las semillas de *Melocactus actinacanthus* Areces, *Melocactus guitartii* León y *Mammillaria prolifera* (Mill) Haw. subsp. *prolifera* son fotoblásticas positivas; aspecto que está relacionado con el tamaño y la masa de la semilla.
4. Se corrobora que alrededor de los 25 °C, las tres especies objeto de estudio alcanzan los máximos porcentaje de germinación. En *Melocactus actinacanthus* la temperatura óptima donde se alcanza la mayor velocidad de germinación es 29,8 °C.

Recomendaciones

1. Realizar repeticiones de las pruebas de viabilidad en las especies objeto de estudio para estandarizar y registrar el comportamiento de las mismas.
2. Estudiar la incidencia de la dormancia y de la presencia de aceites en la semilla, al aplicar la prueba de viabilidad en cada una de las especies estudiadas.
3. Se recomienda, que para los esfuerzos en la aplicación de técnica de conservación en *Melocactus actinacanthus* Areces, *Melocactus quitartii* León y *Mammillaria prolifera* (Mill) Haw. subsp. *prolifera*, se garanticen las condiciones ambientales de temperatura y luz que respondan a los resultados obtenidos en este estudio.

Referencias Bibliográficas

- Alcorn, S.M. & Kurtz, E.B. (1959). Some factors affecting the germination of seed of the saguaro cactus (*Carnegiea gigantea*). *American Journal of Botany* (46): 526–529.
- Anderson, E. (2001). The cactus family. Timber Press, Inc. USA 776 p.
- AOSA. (2008). Tetrazolium Testing Handbook. The Tetrazolium Subcommittee of the Association of Official Seed Analysts. 1970.
- Areces, A. E. (1976). Una nueva especie de *Melocactus* Link et Otto de Cuba. *Ciencias. Ser. Bot.* (9): 3-11.
- Arias, I. & Lemus, L. (1984). Interaction of Light, temperature and plant hormones in the germination of seeds of *Melocactus cassius* Went. (Cactaceae) *Acta Científica Venezolana* (35): 151-155.
- Barthlott, W. & Hunt, D. (2000). Seed-diversity in the Cactaceae subfam. Cactoide. Sherborne. England.
- Baskin, C. & Baskin, J. (1998). Seed ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. *Academic Press*. p 301-302.
- Berazaín, R., Areces, F., Lazcano, J. C., González, L. R. (2005). Lista roja de la flora vascular cubana. Jardín Botánico Atlántico de Gijón.
- Bewley, J.D. & Black, M. (1994). Seeds. Physiology of development and germination. *Plenum Press*, New York, 445 p.
- Borhidi, A. (1991). Phytogeography and vegetation ecology of Cuba. 1st edition, *Akademiai Kiadó*. Budapest, Hungary.
- Cota Sánchez, J.H. (1984). Influencia de la luz, temperatura y sustancias químicas sobre la germinación de semillas de *Ferocactus latispinus* (Haw.) Br. & Rose (Cactaceae). Bachelor Thesis, ENCB- Instituto Politécnico Nacional, México, D.F. 82 p.
- Covell, S., Ellis R.H., Roberts, E.H. & Summerfield, R.J. (1986). The influence

of temperature on seed germination rate in grain legumes. A comparison of chickpea, lentil, soybean and cowpea at constant temperature. *Journal of Experimental Botany*. (37): 297-306.

- Dau, L. & Laboriau, L. G. (1974). Temperature control of seed germination in *Pereskia aculeata* Mill. *Anais Academia Brasileira de Ciencias*. (46): p 311-322.
- Del Castillo, R.F. (1986). Semillas, germinación y establecimiento de *Ferocactus histrix*. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. (31): p 5-11
- Ellis, R.H., T.D., Roberts, E.H. & Tao, K.L (1989). Low Moisture Content Limits to Relations between Seed Longevity and Moisture. *Annals of Botany* (65) (5): p 493-504.
- Fearn, B. (1974). An investigation into the effect of temperature on seed germination of nine species of cacti using thermal gradient bars. *Cactus and Succulent Journal*. (U.S.) (46): p 215-219.
- Fearn, B. (1981). Seed germination: the modern approach. *The Cactus and Succulent Journal of Great Britain* (43): p 13–16.
- Fenner, M & Thompson, K. (2005). The Ecology of seeds. Cambridge University Press.
- Flores, J., Jurado, E., Chapa-Vargas, L., Ceroni-Stuva, A., Dávila-Aranda, P., Galindez, G., Gurvich, D., León-Lobos, P., Ordóñez, C., Ortega-Baes, P., Ramírez-Bullón, N., Sandoval, A., Seal, CE., Ullian, T and Pritchard HW (2011). Seeds photoblastism and its relationship with some plant traits in 136 cacti taxa. *Environmental and Experimental Botany* (71): p 79-88.
- Flores, J., & Jurado, E. (2011). Germinación de especies de Cactaceae en categoría de riesgo del desierto Chihuahuense. *Rev.Mex.Cienc. For.* (2) (8).
- García-Agustín, P. & Primo-Millo, E. (1996). Germinación de semillas. capítulo del libro Fisiología y Bioquímica Vegetal. Azcon-Bieto, J. & Talon, M. Editorial Mc Graw Hill. Madrid. 419 p.
- Gentry, A. (1993). A field guide to the families and genera of Woody Plants of Northwest South America (Colombia, Ecuador and Peru) with supplementary notes on herbaceous taxa.

- Gibson, A. & Nobel, P. (1986). The cactus primer. *Harvard University Press*, Cambridge, Mass., USA.
- Godinez-Álvarez, H. & Valiente-Baunet, A. (1998). Germination and early seedling growth of Tehuacán Valley cacti species: the role of soil and seed ingestion by dispersers on seedling growth. *J.Arid Environ.* (39): 21-31.
- Gonzales-Torres, L. R. (2007). Action Plan for the conservation of Cuban Cacti. Project submitted in part fulfilment of the requirement for the Kew International Diploma in Plant Conservation Strategies. August 2007.
- Hardegree, S. P. (2006). Predicting Germination Response to Temperature. III. Model Validation Under Field-variable Temperature Condition. *Annals of Botany* (98): 827-834.
- Hernández, A., Toledo, S. P., Mari, J. A., Hondal, L. N. & García V. M. (2005). La familia Cactaceae en la provincia Sancti Spíritus, Cuba Central. In: González Torres, L.R., Palmarola, A. & Rodríguez, A. (eds.), *Memorias del Taller Conservación de Cactus Cubanos*. p 95-99, Jardín Botánico Nacional, Universidad de la Habana, 23-25 de marzo del 2005, Ed. Feijóo, Santa Clara, Cuba.
- Hunt, D.N. & Charles, G. (2006). The new cactus Lexicon. (1-2) DH Books, Milbourn Port, UK.
- ISTA, (2007). International rules for seed testing.
- Jankowska-Błaszczuk, M. & Daws, M. (2007). Impact of red ratios on germination of temperate forest herbs in relation to shade tolerance, seed mass and persistence in the soil. *Functional Ecology*. (21): 1055-1062.
- León, Hermano. (1946). Flora de Cuba. t. (3). 428 p. Cultural S.A. La Habana.
- Leyva, O., González, A. & Mastrapa, E. (2005_a). Las cactáceas cubanas de la provincia Holguín. In: González Torres, L.R., Palmarola, A. & Rodríguez, A. (eds.), *Memorias del Taller Conservación de Cactus Cubanos*. p107-111, Jardín Botánico Nacional, Universidad de la Habana, 23-25 de marzo del 2005, Ed. Feijóo, Santa Clara, Cuba.

- López-Mata, L., Loza-Cornejo S., & Terrazas T. (2008). Características de semillas, germinación y desarrollo de plántulas de seis especies de Pachycereeae (Cactaceae) Tesis de doctorado en Ciencias. Programa de Botánica, Colegio de Postgraduados.
- Mahmoud, A., El-Sheikh, A.M., Abdul Baset, S. (1983). Germination of *Artemisia abyssinica* Sch. Bip. vol. 14. *Journal of the College of Sciences*, King Saud University, p. 253–272.
- Mahmoud, A., El-Sheikh, A.M., Abdul Baset, S., (1984). Germination ecology of *Rhazya stricta*. Decne, vol. 15. *Journal of the College of Sciences*, King Saud University, UK, p. 5–25.
- Martínez-Holguín, E. (1983). Germinación de semillas de *Stenocereus griseus* (Haw.) Buxbaum (Pitayo de mayo). *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. (28): 51-57.
- Matos, J. (2005). Algunas consideraciones sobre el manejo de cactáceas endémicas. *Memorias del Primer Taller Conservación de Cactus Cubanos*, Jardín Botánico Nacional, Universidad de La Habana. 23 – 25 de marzo.
- Matos, J.; González, L. R.; Palmarola, A.; Areces, F.; Mederos, R.; Torres, A.; Ballate D. (2005). Manejo ex situ de *Melocactus actinacanthus*. *Memorias del Primer Taller Conservación de Cactus Cubanos*, p101-106 Jardín Botánico Nacional, Universidad de La Habana. 23 – 25 de marzo de 2005.
- Matos, J.; Montalvo, G.; Quiala, E. (2010). Programa de Conservación de Especies Endémicas y/o Amenazadas de la Flora de Villa Clara. Editorial Feijóo. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas.
- Mc Donough, W. (1964). Germination responses of *Carnegiea gigantea* and *Lemairocereus thurberi*. *Ecology* (45): 155–159.
- Milberg, P., Andersson, L. & Thompson, K. (2000). Large-seeded species are less dependent on light for germination than small-seeded ones. *Seed Science Research*. (10): 99-104.
- Mittermeier, R. A., Myers, N., Robles, P. & Mittermeier C. G. (1999). Hotspots: earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions. 1st

edition. CEMEX & Conservation International, México City, México.

- Nobel, P.S. (1988). Environmental biology of agaves and cacti. *Cambridge University Press*, New York, USA.
- Oldfield, Sara (1997). Cactus and Succulent Plants- Status Survey and Conservation Action Plan. IUCN/SSC Cactus and Succulent Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. IO. 212 p.
- Probert, R.J. (1992). The role of temperature in germination ecophysiology. *The Ecology of Regeneration in Plant Communities*, p 285-326. Wallingford: CAB International. 373 p.
- Pritchard, H.W. & Miller, A.P. (1995). The effect of constant temperatures, light and seed quality on the germination characteristics of *Agave americana*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, (57): 11-14.
- Ramírez, N. (2008). Germinación de semillas de siete especies de cactáceas del ecosistema árido del Cerro Umarcata, Valle del río Chillón-Canta, Lima Perú, con fines de conservación ex situ” Tesis para optar el título de bióloga. Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima. Perú.
- Rifá, J. C., Méndez, I & Risco, R. A. (2005). Cactáceas amenazadas de la provincia de Camagüey, Cuba. In: González Torres, L.R., Palmarola, A. & Rodríguez, A. (eds.), *Memorias del Taller Conservación de Cactus Cubanos*. p101-106, Jardín Botánico Nacional, Universidad de la Habana, 23-25 de marzo del 2005, Ed. Feijóo, Santa Clara, Cuba.
- Rodríguez, A. (2005). Lista de cactus nativos y naturalizados de Cuba: En *Memorias del Primer Taller Conservación de Cactus Cubanos*, Jardín Botánico Nacional, Universidad de La Habana. 23 – 25 de marzo de 2005. p. 63.
- Rodríguez, L. & Apezteguía, R. (1985). Cactáceas y otras suculentas en Cuba. Ministerio de Cultura. Editorial Ciencia y Técnica. Ciudad de la Habana. 199 p.
- Rojas-Aréchiga, M., Orozco-Segovia, A. & Vásquez-Yanes, C. (1997). Effect of light on germination of seven species of cacti from Zapotitlán Valley in Puebla, Mexico. *Journal of Arid Environments* (36): 571-578.

- Rojas-Aréchiga, M., Vásquez-Yanes, C. & Orozco-Segovia, A. (1998). Seed response to temperature of Mexican cacti species from two lives form: an ecophysiological interpretation. *Plant Ecology* (135):207-287.
- Rojas-Aréchiga, M., Vásquez-Yanes, C. (2000). Cactus seed germination: a review. *Journal of Arid Environments* (44): 85–104.
- Rojas-Aréchiga, M., Casas, A. & Vásquez-Yanes, C. (2001). Seed germination of wild and cultivated *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) from the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Central Mexico. *Journal of Arid Environments*. (49): 47-55.
- Sandoval, A. C. (2011). Germination behaviour of *Browningia candelaris* (Meyen) Britton & Rose, and other four vulnerable cacti of Chile. Plant conservation Msc thesis. University of Sussex. England.
- Seal, C.E., Flores, J., Ceroni Stuva, A., Dávila Aranda, P., León-Lobos, P., Ortega-Baes, P., Galíndez, G., Aparicio-González, M.A., Castro Cepero, V., Daws, M.I., Eason, M., Flores Ortiz, C.M., del Fueyo, P.A., Olwell, P., Ordoñez, C., Peñalosa Castro, I., Quintanar Zúñiga, R., Ramírez Bullón, N., Rojas-Aréchiga, M., Rosas, M., Sandoval, A., Stuppy, W., Ulian, T., Vázquez Medrano, J., Walter, H., Way, M. & Pritchard, H.W. (2009). The Cactus Seed *Biology Database* (release 1). Royal Botanic Gardens, Kew.
- Stearn, W.T. (1992). Botanical Latin. History, grammar, syntax, terminology and vocabulary. David & Charles, England, 546 p.
- Tylor, N. P. (1991). The Genus *Melocactus* (Cactaceae) in Central and South America. *Bradleya*, (9):1-80.
- Vadillo, G.; Suni, M.; Cano, A. (2004). Viabilidad y germinación de semillas de *Puya raimondii* Harms (Bromeliaceae). *Rev. Perú. Biol.* (11) (1): 71- 78.
- Wood, C. B.; Miles, S.; Rix, C.; Terry, J.; Daws. (2012). The effect of oil content on viability assessment using tetrazolium: a case study using 171 species. *PGR Newsletter*. (143): 17-23.
- Yang, X. (1999). Storage, Germination and Characterization of Cactaceae Seed. Thesis submitted to Jilin Agricultural University in partial fulfillment of the degree of Doctor of Philosophy.

- Yang, X.; Pritchard, H. & Nolasco, P. (2003). Chapter 32 Effects of temperature on Seed Germination in six species of Mexican Cactaceae del libro Seed Conservation: Turning Science into Practice Smith R.; Dickie, J.; Linington, S.; Pritchard, H. & Probert, R. Kew Publishing. 111p.

Anexos

Análisis estadísticos

Análisis Anova de *M. actinacanthus* en diferentes temperaturas

Tabla Anova

Source	Sum of	Df	Mean	F-Ratio	P-Value
Between groups	23722.6	13	1824.81	41.39	0.0000
Within groups	1234.62	28	44.0935		
Total (Corr.)	24957.2	41			

The StatAdvisor

The Anova table decomposes the variance of the data into two components: a between-group component and a within-group component. The F-ratio, which in this case equals 41.3851, is a ratio of the between-group estimate to the within-group estimate. Since the P-value of the F-test is less than 0.05, there is a statistically significant difference between the means of the 14 variables at the 95.0% confidence level. To determine which means are significantly different from which others, select Multiple Range Tests from the list of Tabular Options.

Prueba de la diferencia mínima significativa en Luz en *M. actinacanthus* a diferentes temperaturas.

Method: 95.0 percent LSD

	Count	Mean	Homogeneous Groups
T2	3	0.0	X
T1	3	0.0	X
T3	3	3.84565	X
T14	3	45.3921	X
T13	3	46.9228	X
T4	3	46.9228	X
T12	3	52.3754	XX
T11	3	55.9863	XXX
T7	3	58.4141	XX
T8	3	60.7872	XX
T9	3	63.4349	XX
T5	3	63.7397	X
T10	3	65.6067	X
T6	3	65.8904	X

Contrast	Sig.	Difference	+/- Limits
T1 - T10	*	-65.6067	11.106
T1 - T11	*	-55.9863	11.106
T1 - T12	*	-52.3754	11.106
T1 - T13	*	-46.9228	11.106
T1 - T14	*	-45.3921	11.106
T1 - T2		0.0	11.106
T1 - T3		-3.84565	11.106
T1 - T4	*	-46.9228	11.106
T1 - T5	*	-63.7397	11.106
T1 - T6	*	-65.8904	11.106
T1 - T7	*	-58.4141	11.106
T1 - T8	*	-60.7872	11.106
T1 - T9	*	-63.4349	11.106
T10 - T11		9.62042	11.106
T10 - T12	*	13.2313	11.106
T10 - T13	*	18.6839	11.106
T10 - T14	*	20.2146	11.106
T10 - T2	*	65.6067	11.106
T10 - T3	*	61.761	11.106
T10 - T4	*	18.6839	11.106
T10 - T5		1.86702	11.106
T10 - T6		-0.283696	11.106
T10 - T7		7.1926	11.106
T10 - T8		4.81947	11.106
T10 - T9		2.17173	11.106
T11 - T12		3.61084	11.106
T11 - T13		9.06343	11.106
T11 - T14		10.5942	11.106
T11 - T2	*	55.9863	11.106
T11 - T3	*	52.1406	11.106
T11 - T4		9.06343	11.106
T11 - T5		-7.7534	11.106
T11 - T6		-9.90412	11.106
T11 - T7		-2.42782	11.106
T11 - T8		-4.80095	11.106
T11 - T9		-7.44869	11.106
T12 - T13		5.45259	11.106
T12 - T14		6.98335	11.106
T12 - T2	*	52.3754	11.106
T12 - T3	*	48.5298	11.106
T12 - T4		5.45259	11.106
T12 - T5	*	-11.3642	11.106
T12 - T6	*	-13.515	11.106
T12 - T7		-6.03866	11.106
T12 - T8		-8.41179	11.106

T12 - T9		-11.0595	11.106
T13 - T14		1.53076	11.106
T13 - T2	*	46.9228	11.106
T13 - T3	*	43.0772	11.106
T13 - T4		0.0	11.106
T13 - T5	*	-16.8168	11.106
T13 - T6	*	-18.9676	11.106
T13 - T7	*	-11.4913	11.106
T13 - T8	*	-13.8644	11.106
T13 - T9	*	-16.5121	11.106
T14 - T2	*	45.3921	11.106
T14 - T3	*	41.5464	11.106
T14 - T4		-1.53076	11.106
T14 - T5	*	-18.3476	11.106
T14 - T6	*	-20.4983	11.106
T14 - T7	*	-13.022	11.106
T14 - T8	*	-15.3951	11.106
T14 - T9	*	-18.0429	11.106
T2 - T3		-3.84565	11.106
T2 - T4	*	-46.9228	11.106
T2 - T5	*	-63.7397	11.106
T2 - T6	*	-65.8904	11.106
T2 - T7	*	-58.4141	11.106
T2 - T8	*	-60.7872	11.106
T2 - T9	*	-63.4349	11.106
T3 - T4	*	-43.0772	11.106
T3 - T5	*	-59.894	11.106
T3 - T6	*	-62.0447	11.106
T3 - T7	*	-54.5684	11.106
T3 - T8	*	-56.9416	11.106
T3 - T9	*	-59.5893	11.106
T4 - T5	*	-16.8168	11.106
T4 - T6	*	-18.9676	11.106
T4 - T7	*	-11.4913	11.106
T4 - T8	*	-13.8644	11.106
T4 - T9	*	-16.5121	11.106
T5 - T6		-2.15072	11.106
T5 - T7		5.32558	11.106
T5 - T8		2.95246	11.106
T5 - T9		0.304714	11.106
T6 - T7		7.4763	11.106
T6 - T8		5.10317	11.106
T6 - T9		2.45543	11.106
T7 - T8		-2.37313	11.106
T7 - T9		-5.02087	11.106
T8 - T9		-2.64774	11.106

* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 54 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95.0% confidence level. At the top of the page, 4 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.