



Universidad Nacional Autónoma de México



Jardín Botánico
Instituto
de Biología

Facultad de Ciencias

**“Micropropagación de *Aporocactus
flagelliformis* (L.) Lem. (Cactaceae),
especie endémica de México:
propuesta para su conservación y
aprovechamiento”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G O

P R E S E N T A:

LUIS LARA MARTÍNEZ

TUTOR:

Dr. VÍCTOR MANUEL CHÁVEZ ÁVILA



Facultad de Ciencias
UNAM

2010



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
Secretaría General
División de Estudios Profesionales

Votos Aprobatorios

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ
Jefe de la División de Estudios Profesionales
Facultad de Ciencias
Presente

Por este medio hacemos de su conocimiento que hemos revisado el trabajo escrito titulado:

Micropropagación de Aporocactus flagelliformis (L.) Lem. (Cactaceae), especie endémica de México: propuesta para su conservación y aprovechamiento

realizado por **Lara Martínez Luis** con número de cuenta **3-0104984-9** quien ha decidido titularse mediante la opción de tesis en la licenciatura en **Biología**. Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

- | | | |
|----------------------|--|------------------------------------|
| Propietario | Ing. Agron. María Teresa de Jesús Olivera Flores | <i>María Teresa Olivera Flores</i> |
| Propietario | M. en C. Guitele Dalía Goldhaber Pasillas | <i>GP Dalía</i> |
| Propietario
Tutor | Dr. Víctor Manuel Chávez Ávila | <i>V. Manuel Chávez Ávila</i> |
| Suplente | M. en C. Octavio González Caballero | <i>Octavio Gbz. C.</i> |
| Suplente | Biól. Gabriel Olalde Parra | <i>Gabriel Olalde Parra</i> |

Atentamente,
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, D. F., a 10 de junio de 2009.
EL COORDINADOR DEL COMITÉ ACADÉMICO DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

[Firma]
DR. PEDRO GARCÍA BARRERA.



Señor sinodal: antes de firmar este documento, solicite al estudiante que le muestre la versión digital de su trabajo y verifique que la misma incluya todas las observaciones y correcciones que usted hizo sobre el mismo.

*nlm.

Agradecimientos

Agradezco a Dios y a la vida por darme la oportunidad de existir, de vivir y de haberme puesto en mi camino a las personas que me han acompañado en este viaje, sin ellas no sería la persona que soy ahora.

A la UNAM, la Facultad de Ciencias y al Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales por haber dado la oportunidad de demostrar mis conocimientos a través de varios años de estudio y dedicación.

Al Dr. Víctor Manuel Chávez Ávila, por todo su apoyo, por toda su paciencia, por todo su conocimiento, pero sobre todo por brindarme su amistad.

Al M. en C. Octavio González Caballero, por enseñarme el camino correcto de lo que quería, por su apoyo, por toda su comprensión y su amistad.

A la M. en C. Mabel Hernández Altamirano por haberme iniciado en el cultivo in vitro y por su apoyo en mi formación como estudiante y persona.

A la M. en C. Dalia Goldhaber Pasillas, por sus enseñanzas y sus consejos, así como su amistad.

Al Biol. Gabriel Olalde Parra, por haberme enseñado ese maravilloso mundo de las cactáceas y haberme proporcionado el material vegetal para poder cumplir mi sueño.

A la Biol. Bárbara Estrada, por todo su apoyo y comprensión pero sobre todo su amistad.

A la M. en C. Maria Teresa Olivera Flores, por su apoyo y enseñanzas.

A mis amigos del Laboratorio, Rosa, Mónica, Marisela, Neri, Miguel, Sergio, Joaquin, Paulina, Horacio, Pablo, por brindarme su amistad y apoyo durante todos estos años

A mis amigos del Universum, Carlos, Paula, Melisa, Anakaren, Bety, Edgar, Jonathan, Abi, Day, Adriana, Lupe, Citlali, Itzue, Bere, Laura, Chole, Lore, Isa, fueron los mejores años de mi vida, porque estuvieron ahí.

A mis amigos del Museo de Geología, Sandra, Adriana, Ángel, Hermes, Gonzalo, Víctor, Iván, Bruno, Vania, Lili, muchas gracias por estar ahí en los momentos más difíciles.

A la Biol. Rocío Hernández, por haberme dado tantos años de su amistad, tanto de su comprensión, por escucharme pero sobre todo por ser mi amiga. Muchas gracias Pk.

A mis amigos del alma, Miguel, Toño, Romano, Zen, Claudia, Tania, Arlette, Chepe, a todos y cada uno muchas gracias por estar en mi camino e iluminarlo con su amistad, les agradezco infinitamente.

A mis amigos de CICEANA, Itzel, José, Mauricio, Noé, Abi, Ile y Ramón, por darme todo su apoyo, su amistad y por creer en mí, muchas gracias.

Dedicatoria

A Dios, por haberme dado la vida.

**A mis padres, por darme todo su apoyo, comprensión
y porque este logro no lo pude haber hecho sin todo su amor.**

A mi hermano, por darme todo su apoyo.

**A Eunice Margarita Balcazar de la Cruz, por haberme enseñado lo que es vivir, soñar
y amar, pero sobre todo por haberme dado el mejor regalo del mundo.**

**A mi hijo, Arian Sacbe Lara Balcazar, por mostrarme el verdadero camino hacia la
felicidad.**

**Lo mejor de los sueños
es que, alguna vez, pueden realizarse.**

Le Corbuiser

ÍNDICE

	Página
Abreviaturas	1
Resumen	2
INTRODUCCIÓN	3
A. ANTECEDENTES	5
1. México un País Megadiverso	5
2. Tipos de Climas y Vegetación de México	7
2.1. Bosque Mesófilo de Montaña	9
2.2. Bosque Tropical Caducifolio	9
3. Problemática Ambiental	10
4. La Familia Cactaceae	12
4.1. Generalidades	12
4.2. Importancia y algunos usos de la Familia Cactaceae	14
4.3. Problemática en la Conservación de las Cactáceas	15
4.4. Descripción Botánica	19
4.5. Características y Descripción Botánica del Género <i>Aporocactus</i>	20
4.6. Clasificación Taxonómica	22
4.7. Distribución	22
4.8. Situación actual de <i>A. flagelliformis</i>	23
5. Tratados de Conservación de Cactáceas	29
5.1. Conservación “ <i>in situ</i> ”	31
5.2. Conservación “ <i>ex situ</i> ”	32
6. Métodos de Propagación Vegetal y su Aplicación en Cactáceas	32
6.1. Cultivo de Tejidos Vegetales	35
6.2 Reguladoras de Crecimiento Vegetal	37
6.3 Vías de Regeneración <i>in vitro</i>	39

6.4. Complicaciones Presentes Durante la Micropropagación	40
6.5 Cultivo de Tejidos en Cactáceas	43
B. PLANTEAMIENTO Y JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA	47
C. OBJETIVOS	48
Objetivo General	
Objetivos Particulares	
MATERIALES Y MÉTODOS	49
1. Material biológico	49
2. Desinfección superficial de tallos	49
3. Siembra de explantes y preparación del medio de cultivo	50
4. Condiciones de incubación	51
5. Individualización de Brotes	51
6. Aclimatización	51
7. Propuesta de Conservación y Aprovechamiento	51
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	54
1. Propagación <i>in vitro</i>	54
1.1 Desinfección Superficial de los Tallos	54
1.2 Respuestas al Cultivo <i>in vitro</i>	55
1.2a Callo	56
1.3. Organogénesis Directa	57
1.3a. Formación de Raíz a partir del Explante	57
1.3b. Formación de Brotes (Periodo de Inducción)	59
1.3c. Formación y desarrollo de brotes y raíces	63
1.3d. Hiperhidratación	70
1.3e. Individualización de Brotes	73
1.3f. Aclimatización de los brotes regenerados	76
2. Acciones y propuesta de conservación	78
3. Propuesta de aprovechamiento	83

CONCLUSIONES	85
BIBLIOGRAFÍA	87
ANEXOS	98

Abreviaturas

2,4-D	Ácido 2,4-Dicloro fenoxiacético
2iP	N-6 dimetil alil aminopurina
AIA	Ácido indol-3-acético
AIB	Ácido indol-3butírico
ANA	Ácido α - naftalenacético
BA	6 – Benciladenina
Br	Brote
Ca	Callo
CITES	Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres
CICEANA	Centro de Información y Comunicación Ambiental de Norte América A.C.
CTV	Cultivo de Tejidos Vegetales
IUCN(UICN)	Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza y los Recursos Naturales
Kin	Kinetina
MS	Medio Murashige y Skoog
O.D.	Organogénesis Directa
O.I.	Organogénesis Indirecta
Rz	Raíz
RzA	Raíz adventicia
RzB	Raíz del Brote
Z	Zeatina

Resumen

Aporocactus flagelliformis es una especie endémica de México distribuida en los bosques tropicales caducifolios y mesófilos de montaña de los estados de: Guanajuato, Hidalgo, México, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí y Veracruz. Debido a su belleza floral es colectada ilegalmente para su venta como planta ornamental y aunado a la destrucción de su hábitat, ha provocado que la NOM-059 -ECOL-2001 la coloque bajo el estatus de especie sujeta a protección especial (Pr), mientras que la CITES la ha catalogado en el Apéndice II, por lo que la propagación *in vitro* propone ser una alternativa para su conservación y aprovechamiento. El material vegetal inicial fue tomado de un individuo adulto del Jardín Botánico, IBUNAM. Se utilizaron como explantes tallos jóvenes de 3 a 5 cm de largo sembrados asépticamente en medio MS 50% y PVP 1% suplementado con concentraciones de ANA (0, 0.1, 0.2, 0.5 mg/L) y BA (0, 1.0, 2.0, 3.0 mg/L). Después de 60 días de inducción se observó una organogénesis directa, con la formación de brotes en todos los tratamientos, al término de 15 meses de iniciados los cultivos se lograron regenerar 1068 brotes en todo el experimento, siendo el tratamiento 6 suplementado con ANA (0.1 mg/l)/BA (1.0 mg/l) el que generó el mayor número de brotes por explante (10.6), con un total de 160 brotes en todo el tratamiento, los cuales presentaron una morfología similar a la planta madre, con una longitud promedio de 3.0 cm, seguido del tratamiento 3 suplementado con ANA (0 mg/l)/BA (2.0 mg/l) con 7.3 brotes por explante, el cual generó en total 110 brotes en todo el tratamiento. Se aclimatizó un total de 150 plantas, con una sobrevivencia del 85% al cabo de 6 meses. De las cuales, 100 fueron donadas a 4 Jardines Botánicos, ubicados en la Ciudad de México y Estado de México, para su conservación *ex situ* y aprovechamiento. El establecimiento de un protocolo de micropropagación ayuda a disminuir la presión de colecta sobre las poblaciones silvestres de *Aporocactus flagelliformis*, por lo que este estudio generó las bases para su conservación y aprovechamiento.

Introducción

México es uno de los siete países megadiversos del planeta por su alta riqueza biológica (Mittermeier, 1988; Challenger 1998); está considerado como el cuarto país con la mayor biodiversidad a nivel mundial en término de riqueza de especies, diversidad genética, tipos de vegetación y germoplasma de plantas cultivadas (Soberón y Llorente, 1993). Su gran diversidad biológica se atribuye a la combinación de diversos factores, entre ellos, su posición geográfica, variabilidad geológica, diversidad de altitudes, climas y su orografía (Ramamoorthy *et al.*, 1993).

De acuerdo con Toledo (1988) y Rzedowski (1993), México cuenta con el 12.78% de las plantas descritas que existen actualmente en el mundo, sumando un total de 34 000 especies de las cuales 220 familias, 2 410 géneros y 22 000 especies pertenecen a plantas vasculares que constituyen la flora fanerogámica del país. Su extraordinaria riqueza biológica está representada por la gran cantidad de endemismos que presenta. El hecho de que entre el 10% y 15% de los géneros y 52% de las especies de plantas con flores de México sean endémicas, indica que nuestro país ha sido el lugar de origen y evolución de muchos linajes de plantas y que ha desempeñado un importante papel en la evolución y radiación secundaria de linajes cuyos orígenes se remontan a otras regiones del planeta (Rzedowski, 1993).

Ejemplo de una de las familias de plantas más representativas de nuestro país es la Familia Cactaceae, endémica del Continente Americano, la cual comprende entre 100 a 110 géneros con aproximadamente 1600 a 3100 especies. En México, esta Familia se encuentra representada, con cerca de 51 géneros y aproximadamente 738 a 900 especies y de las cuales 540 a 687 son endémicas, lo que significa que tres cuartas partes de la cactoflora de nuestro país es única, por lo que resulta preocupante que la mayoría de las especies mexicanas endémicas se encuentre con algún grado de amenaza de extinción (Hernández y Godínez, 1994; Bravo-Hollis y Scheinvar, 1995; Challenger, 1998).

Aporocactus flagelliformis es una especie endémica de México distribuida en los bosques tropicales caducifolios y bosques mesófilos de montaña en los estados de: Hidalgo, Oaxaca, Guanajuato, México, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí y Veracruz (Guzmán, 2003). Debido a su belleza floral, es colectada ilegalmente para su venta como planta ornamental y aunado a la destrucción de su hábitat, ha provocado que la NOM-059-ECOL-2001 la coloque bajo el estatus de especie sujeta a protección especial (Pr), mientras que CITES la ha catalogado en el Apéndice II. Hasta donde se sabe no se tienen reportes sobre trabajos publicados de su propagación por métodos convencionales (esquejes o semillas), por lo que la propagación y conservación *ex situ* resulta esencial para la preservación de esta especie.

A partir de la conservación *ex situ* se generan grandes posibilidades de investigación sobre los componentes de la diversidad biológica, el cual permite que las instituciones involucradas en estas actividades participen en la difusión científica y la educación ambiental (UICN, 1994).

El Cultivo de tejidos vegetales es una forma de conservación *ex situ* conjunto de técnicas que consisten en cultivar asépticamente, estructuras vegetales como células, protoplastos, embriones, órganos, tejidos, etc., en un medio de composición química definida, que le aporta los nutrientes necesarios para su desarrollo, en condiciones ambientales controladas para dirigir sus respuestas morfogénicas (George y Sherrington, 1984).

En esta investigación se propone, al igual que Corona y Chimal (2006) establecer a *A. flagelliformis* como planta con potencial ornamental y medicinal (Bravo-Hollis, (1978); Aguilar, 1994; Andrade-Cetto, 2005), por lo que la propagación *in vitro*, es un punto esencial para su conservación, aprovechamiento y comercialización a través de la biotecnología (Rubluo, 1997; Malda *et al.*, 1999; Hubstenberger, 1992) como lo ha sido con *Mammillaria san-angelensis* (Martínez-Vázquez y Rubluo, 1989), *Turbinicarpus laui* (Mata-Rosas *et al.*, 2001) y *T. pseudopectinatus* (González-Caballero, 2008), entre otras cactáceas endémicas de México en peligro de extinción.

Antecedentes

1. México un país megadiverso

El concepto de biodiversidad se refiere en general a la variabilidad de la vida; incluye los ecosistemas terrestres y acuáticos, los complejos ecológicos de los que forman parte, así como la diversidad entre las especies y dentro de cada especie. La biodiversidad abarca, por lo tanto, tres niveles de expresión de variabilidad biológica: ecosistemas, especies y genes. En estos niveles se integra una amplia gama de fenómenos, de manera que la biodiversidad de un país se refleja en los diferentes tipos de ecosistemas que contiene, el número de especies que posee, el cambio en la riqueza de especies de una región a otra, el número de endemismos, las subespecies y variedades o razas de una misma especie, entre otros (CONABIO, 1998).

La diversidad de especies no se distribuye uniformemente en el planeta; en general las regiones tropicales son las que albergan la mayor proporción de la diversidad del globo, en particular las selvas húmedas son el hogar de cerca de la mitad de las especies del mundo. Dentro de esta faja de biodiversidad que ciñe los trópicos quizás de 50 a 80% de la diversidad biológica del mundo se localice en doce países (Challenger, 1998).

En el mundo existen más de 170 países, pero sólo 12 de ellos están considerados como megadiversos y albergan en conjunto entre 50 y 80% de la biodiversidad total del planeta. México es uno de los 12 países Megadiversos del planeta por su alta riqueza biológica (Mittermeier, 1988; Challenger, 1998; CONABIO, 1998); está considerado como el cuarto país con la mayor biodiversidad a nivel mundial en términos de riqueza de especies, diversidad genética, tipos de vegetación y germoplasma de plantas cultivadas (Soberón y Llorente, 1993). Su gran diversidad biológica se atribuye a la combinación de diversos factores, entre ellos, su historia biogeográfica, su posición geográfica, variabilidad geológica, diversidad de altitudes, climas y su orografía (Ramamoorthy *et al.*, 1993).

En cuanto a importancia de la riqueza biológica, México es tal vez el cuarto país más importante del mundo, pues se calcula que alberga entre 8 y 12% del total de especies del planeta (Mittermeier, 1988; Challenger, 1998).

En México predominan en particular ciertos taxa (**Tabla 1**): ocupa el primer lugar mundial en reptiles con 717 especies, el segundo en mamíferos terrestres con 449 especies, el cuarto lugar en anfibios con 285 especies, mientras que la flora vascular ocupa el cuarto lugar, con al menos, 26 000 especies conocidas y con un estimado de 29 000 a 34 000 especies de plantas (Challenger, 1998).

Tabla 1. Países con megadiversidad de especies de varios grupos representativos de la biota (Challenger, 1998).

Mamíferos		Anfibios		Reptiles		Angiospermas	
Indonesia	519	Brasil	516	México	717	Brasil	55 000
México	449	Colombia	407	Australia	597	Colombia	45 000
Brasil	428	Ecuador	358	Indonesia	529	China	30 000
Perú	410	México	285	Brasil	467	México	26 000
China	410	Indonesia	270	India	453	Australia	25 000

La complicada topografía (más de 50% del territorio nacional se encuentra en altitudes mayores a los mil metros), junto con las diferencias determinadas por la latitud, producen un mosaico climático con un número muy grande de variantes. A nivel regional, puede considerarse la influencia de su complicada y variada topografía así como la situación de sus principales cordilleras. Los cambios altitudinales traen consigo variaciones climáticas en cuanto a la intensidad de la irradiación y de la insolación, de la humedad atmosférica relativa, la oscilación diurna de la temperatura y la cantidad de oxígeno disponible. Por otra parte, la forma que le confieren al país sus litorales, junto con la alineación de sus principales serranías, influyen de manera decisiva en la distribución de la humedad y también muchas veces de la temperatura (Cordero y Morales, 1998).

Dentro de los factores históricos destaca el biogeográfico. El territorio mexicano es considerado, como la zona de transición entre dos grandes regiones: la neotropical (constituida por Sudamérica y Centroamérica) y la neártica (que corresponde a Norteamérica), las cuales hicieron contacto hace aproximadamente seis millones de años. Debido a esto, México constituye una zona biogeográficamente compuesta, donde el contacto entre biotas ancestrales ha dado como resultado una rica mezcla de fauna y flora con diferentes historias biogeográficas (Flores y Gerez, 1995).

Al ser México un país megadiverso, se debería garantizar la permanencia de las especies existentes en su territorio. Los recursos naturales son patrimonio de la nación que los posee y, por ello, los mexicanos debemos ser los primeros interesados en su protección; no es viable ni deseable el crecimiento económico que se basa en la depredación de los recursos naturales, por lo que es necesario conciliar desarrollo y medio ambiente (Sarukhán y Dirzo, 1992).

Debido a que México presenta una combinación favorable de factores geológicos, climáticos y geográficos, logra albergar una gran cantidad de familias botánicas, entre las que sobresalen las cactáceas, encontrándose en zonas áridas, semiáridas y subtropicales (Reyes *et al.*, 2006).

Tipos de Climas y Vegetación de México

La variación del clima en el territorio mexicano es tan grande, que contiene prácticamente todos los grupos y subgrupos climáticos posibles, existiendo variaciones de climas secos a húmedos en una distancia de pocos kilómetros. Esta variabilidad climática se debe a varios factores:

1. La situación latitudinal del país con relación a los grandes cinturones de vientos;
2. Su gran complejidad topográfica;
3. La anchura variable del continente a lo largo del territorio;
4. La temperatura de las corrientes marinas que bañan las costas mexicanas y
5. La trayectoria de las tormentas de verano y de las masas polares que invaden el país en invierno (CONABIO, 1998).

Los distintos tipos de hábitats terrestres, también denominados zonas ecológicas, propuestas por Toledo y Ordóñez (1993), caracterizan una regionalización ecológica del país cuyos objetivos son simplificar la heterogeneidad ecológica y facilitar el reconocimiento de grandes discontinuidades en el paisaje a escala nacional.

Esta zonificación ecológica se basa en criterios que incluyen el tipo de vegetación, el clima y aspectos biogeográficos, por lo que cada zona ecológica es la unidad de la superficie terrestre donde se encuentran conjuntos de vegetación con afinidades climáticas e historias o linajes biogeográficos comunes. Con base en lo anterior, se definieron seis tipos de hábitats terrestres continentales o zonas ecológicas: (1) tropical cálido-húmeda, (2) tropical cálido-subhúmeda, (3) templada húmeda, (4) templada subhúmeda, (5) árida y semiárida y (6) zona inundable o de transición mar-tierra (Toledo y Ordóñez, 1993 y 1996) (**Tabla 2**). La zona árida-semiárida cubre cerca de 50% de la superficie del país; le siguen en orden de extensión la zona templada subhúmeda con 19.7%, la zona tropical cálido-subhúmeda que ocupa 17.5% y la zona cálido húmeda que se distribuye en 11% del país. Las zonas de menor cobertura son la templada húmeda con 1.1% y la zona de transición mar-tierra que ocupa 0.9%.

Como tipo de vegetación, se designa a la composición de especies de la cubierta vegetal de una región, área o lugar. La cubierta vegetal se refiere al conjunto de especies que tienen determinadas formas de vida o también a la agrupación de especies que por sus requerimientos y tolerancias ambientales tienen características comunes (por ejemplo en su fisonomía, tamaño y desarrollo). Para llevar a cabo la descripción de las comunidades vegetales se pueden considerar varios aspectos, entre los que destacan la flora (las especies componentes), la fisonomía (o apariencia de la

vegetación), la ubicación geográfica y las características climáticas y edafológicas (Cordero y Morales, 1998).

Tabla 2. Características de las principales zonas ecológicas de México (Toledo y Ordóñez, 1993).

<i>Hábitat</i>	<i>Área Estimada</i> ¹	<i>Vegetación Dominante</i>	<i>Flora</i> ²		<i>Clima</i> ³
			<i>Riqueza</i>	<i>Endémica</i>	
Trópico húmedo	22	Bosques tropicales altos y medios y sabanas	5 000	250	Am, Af
Trópico subhúmedo	40	Bosques deciduos	6 000	2 400	Aw
Templado húmedo	1	Bosques mixtos	3 000	900	A(C)m, C(A)m
Templado subhúmedo	33	Bosque de pino, encino y mixtos	7 000	4 900	CW
Árido y semiárido	99	Matorrales y pastizales	6 000	3 600	Bs, Bw

¹Millones de hectáreas

²Número de especies de plantas de acuerdo con Rzedowski (1993).

³De acuerdo con el sistema de clasificación de Köppen modificado por (García, 1989).

Rzedowski (1978), agrupó los principales tipos de vegetación de nuestro país de acuerdo con sus características fisiográficas, climáticas, edafológicas y fisonómicas y encontró, entre otras cosas, que la mayor parte del territorio nacional (38%) se encuentra cubierto por matorral xerófilo, seguido por bosques de coníferas y encinos (19%) y el bosque tropical caducifolio (14%) (**Tabla 3**).

Tabla 3. Cobertura territorial por tipo general de vegetación (Rzedowski, 1990).

<i>Tipo de vegetación</i>	<i>Área (km2)</i>	<i>%</i>
Bosque Mesófilo de Montaña	17 886.86	0.92
Matorral Xerófilo	732 817.84	37.62
Pastizal	159 110.23	8.17
Bosque Espinoso	113 029.04	5.8
Bosque de Coníferas y Encinos	376 812.29	19.35
Bosque Tropical Perennifolio	193 726.05	9.95
Vegetación Acuática y Subacuática	23 023.99	1.18
Bosque Tropical Caducifolio	268 220.30	13.77
Bosque Tropical Subcaducifolio	63 127.27	3.24
Total	1 947 753.87	100

No obstante de que las cactáceas crecen principalmente en zonas áridas y semiáridas, también se les encuentra en zonas trópico húmedo, trópico subhúmedo y templado húmedo, así como en bosques mesófilos de montaña, el cual es reconocido como uno de los principales centros de endemismo de México, sobre todo en orquídeas, helechos, musgos y cactáceas, los géneros más representativos para este clima son: *Aporocactus*, *Epiphyllum*, *Hylocereus*, *Rhipsalis* y *Selenicereus*, entre otros. Por lo que,

México es un importante centro de diversificación debido a que en su territorio se encuentra el mayor número de géneros y especies de los cuales la mayoría son endémicos (Bravo y Scheinvar, 1995; Rzedowski, 1993; Toledo y Ordoñez, 1993).

Bosque Mesófilo de Montaña

En el pasado geológico, el tipo de vegetación que hoy se conoce como bosque mesófilo de montaña cubría extensas áreas de México, pero en la actualidad sólo sobrevive como comunidades relictas distribuidas en formas de archipiélagos vegetacionales, cuya extensión total es menos del 1% de las tierras mexicanas (0.87%, aproximadamente 17 400km²) lo que lo hace la zona más restringida del país. No obstante sus antiguos orígenes y subsecuente aislamiento geológico hacen de estos bosques un verdadero tesoro biológico, ya que cuentan con muchas especies paleoendémicas y varias especies endémicas de evolución más reciente, así como una biodiversidad total superior a la de cualquier tipo de vegetación en relación con el espacio que ocupan. Por otro lado los bosques mesófilos de montaña tienen una composición y una estructura característica, que son el resultado de la migración y mezcla a gran escala de las floras holártica y neotropical en el pasado geológico, de modo que en el dosel suelen dominar árboles caducifolios de clima templado, en tanto que en el sotobosque prevalecen las especies tropicales perennifolias (Challenger, 1998).

El bosque mesófilo de montaña se localiza en las partes medias de las cadenas montañosas (entre 600 - 2,500 m), ocupando sitios restringidos (cañadas, laderas protegidas, etc.) en los que prevalece un clima fresco con una alta humedad relativa del ambiente (Rzedowski, 1978; Toledo y Ordoñez 1993, Challenger, 1998).

Por consiguiente, éste se encuentra disperso en enclaves ecológicos de las montañas de la Sierra Madre Occidental, desde Sonora hasta Michoacán, de la Sierra Madre Oriental, desde el sur de Tamaulipas hasta el centro de Veracruz, de la sierra Madre del Sur de Guerrero y Oaxaca, de la Sierra Norte de Oaxaca y de la Sierra Madre de Chiapas (Challenger, 1998).

Bosque Tropical Caducifolio

En México, el Bosque tropical caducifolio se distribuye principalmente en la vertiente del Pacífico desde Sonora hasta Chiapas, con algunas interrupciones en la porción más húmeda de Nayarit y Oaxaca. En la vertiente del Golfo de México se localiza desde el sur de Tamaulipas y se extiende, en áreas más aisladas y discontinuas hasta la parte norte de la península de Yucatán, también se le encuentra en las áreas menos secas del valle de Tehuacán-Cuicatlán, así como la región del bajío en la altiplanicie

mexicana; además de las selvas bajas que se encuentran en el área de los cabos en la porción sur de la península de Baja California (Trejo, 1998).

De acuerdo con Masera *et al.*, (1997) estimaron que la tasa de deforestación del bosque tropical caducifolio en México es de 1.9% anual (306,000 ha/año), debido a que los bosques tropicales caducifolios son comunidades muy diversas, su destrucción contribuye significativamente a la pérdida de la biodiversidad del planeta.

El bosque tropical caducifolio está considerado como uno de los ecosistemas más amenazados, su pérdida afectaría a varias familias botánicas, incluidas las Cactaceas, por lo que deberían encauzarse acciones para su conservación (Murphy y Lugo, 1986; Janzen, 1988).

Problemática Ambiental

Además de ser el hogar de 10 a 12% de la biodiversidad biológica mundial (Toledo y Ordoñez, 1993) México, al igual que el resto de los países con megadiversidad, tiene una alta proporción de las especies y los ecosistemas del planeta en mayor riesgo (Mittermeier, 1988). Se estima que 17% de las plantas endémicas de México, es decir 477 especies, se encuentran en peligro de extinción (Challenger, 1998).

En cuanto a la posible pérdida de hábitats, se cree que los ecosistemas más amenazados son el bosque mesófilo de montaña con su alta proporción de plantas y animales endémicos y la selva alta perennifolia con el nivel de diversidad biológica más alto y el mayor número de especies endémicas de mariposas y anfibios (Toledo y Ordoñez, 1993).

Un estudio acerca de la deforestación hecho por el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) calculó que la deforestación ocurrida en México entre 1981 y 1985 avanzó a una tasa anual de 500 000ha, la tercera en magnitud de Latinoamérica, en cálculos más recientes se mostraron incrementos en esta tasa, en 1988 se elevó a 615 000 ha por año y a 700 000 ha por año en 1989, es decir una tasa anual de 4.2%, siendo la más alta de toda Centroamérica (Challenger, 1998).

Como en la mayor parte de Latinoamérica, la pérdida de bosques y selvas en México se debe sobre todo a su conversión en pastizales de pastoreo. La producción ganadera es mayor en el norte árido y semiárido pero, las poblaciones de bovinos que más han crecido últimamente son las del trópico húmedo, lo que conlleva a una deforestación a gran escala (Challenger, 1998).

En consecuencia, la conversión de más de 22% de esta vegetación en pastizales permanentes constituye una gran amenaza para estas especies que habitan en pequeñas poblaciones aisladas dentro de este ambiente fragmentado en forma natural en laderas y cañadas húmedas (Challenger, 1998).

Los ecosistemas naturales de los países megadiversos, dentro de los cuales se encuentra México, están experimentando alteraciones significativas que amenazan sus ecosistemas y con ello a sus recursos naturales (Sharukhán y Dirzo, 2001).

Cerca del 10% del territorio mexicano (aproximadamente 20 millones de ha), se dedica a la producción agrícola (Toledo, 1998;). Los cultivos de frutas, verduras y granos que abastecen a las ciudades de México, Guadalajara y otras, se concentran sobre todo en las tierras altas templadas del centro del país y en los estados vecinos, la zona del país con mayor densidad de población. Estos cultivos afectan de varios modos las distintas zonas ecológicas (Challenger, 1998).

La transformación de un ecosistema implica un desequilibrio en los ciclos hidrológicos y energéticos, así como también erosión y contaminación, lo que causa una disminución en la variabilidad biológica. Dicha disminución significa la desaparición irreversible de genotipos que han sido el resultado de un proceso evolutivo de millones de años, e implica también una reducción sensible en la probabilidades de utilización de la variabilidad vegetal (Álvarez-Sánchez, 1993).

Entre las causas que hacen de México un país de gran diversidad biológica están la topografía, la variedad de climas y una compleja historia tanto geológica y biológica. Estos factores han contribuido a formar un mosaico de condiciones ambientales y microambientales que promueven una gran variedad de hábitats y familias botánicas, siendo las cactáceas una de las más representativas a nivel genérico y específico de nuestro país (Arias, 1993; Sarukhán *et al.*, 1996).

La Familia Cactaceae

Generalidades

La palabra Cactaceae proviene del griego *kaktos* que significa espinoso. Esta es una familia endémica del Continente Americano, que comprende entre 100 a 110 géneros con alrededor de 1600 a 3100 especies. En México, esta familia se encuentra ampliamente representada, con cerca de 51 géneros y aproximadamente de 738 a 900 especies y de las cuales 540 a 687 son endémicas, lo que significa que tres cuartas partes de la cactoflora de nuestro país sea única, por lo que resulta preocupante que la mayoría de las especies mexicanas con algún grado de amenaza de extinción sean endémicas. Constituyendo una de las familias botánicas más importantes de nuestro país (Hernández y Godínez, 1994; Bravo-Hollis y Scheinvar, 1995; Challenger, 1998).

De acuerdo a Barthlott y Hunt (1993), la Familia Cactaceae se clasifica en tres subfamilias: Pereskioideae, Opuntioideae y Cactoideae; esta última, incluye cactáceas con hábito terrestre, trepador y epífita, se divide en varias tribus, entre las cuales, la tribu Hylocereeae comprende géneros que presentan estos tres tipos de hábito. Bravo-Hollis (1978) y Bravo-Hollis y Scheinvar (1995) consideran que el grupo de cactáceas con hábito epífita contiene a los géneros más evolucionados presentando tallos péndulos en forma de cladodios o cilíndricos, con raíces aéreas, hojas reducidas a escamas pequeñas, aréolas con numerosas espinas en géneros primitivos; con fieltro y algunas espinas reducidas en los recientes, así como tejido cortical con abundantes células mucilaginosas. El género *Aporocactus* está clasificado en esta tribu y sus especies epífitas, son endémicas de México. (Arias *et al.*, 1997).

El diagnóstico de la familia está apoyado por caracteres morfológicos tales como el engrosamiento del tallo para almacenar agua, la reducción de los entrenudos para reducir la transpiración, el engrosamiento de la cutícula, excrecencias cerosas de la epidermis, la disposición hundida de los estomas, la atrofia del limbo de las hojas o su transformación en espinas o escamas, hipertrofia de la base de la hoja dando origen a podarios si éstos se encuentran aislados o costillas si se encuentran asociados en hileras, ovario ínfero, placentación parietal, sistema radicular poco profundo pero abarcando gran área, además, el verdadero sistema de absorción sólo se desarrolla en la temporada de lluvias; representación de las yemas axilares por aréolas que pueden producir nuevos brotes, flores, espinas, cerdas, glóquidas, tricomas, pelos y raíces adventicias, semillas con embrión curvo con tendencia a reducción de los cotiledones e hipocórito suculento en el cual existe una tendencia a almacenar las reservas, además de que existe una tendencia a la eliminación del perisperma (Bravo-Hollis, 1978). No obstante, representantes de la familia, considerados como primitivos retienen caracteres tales como tallos suculentos, hojas persistentes y bien desarrolladas,

inflorescencia cimosa, varios estilos y en algunas especies ovario súpero y placentación basal (Judd *et al.*, 2002).

Las cactáceas junto con otras suculentas presentan el metabolismo CAM, el cual le confiere a las plantas un mecanismo ahorrador de agua por el eficiente control de la transpiración debido a la regulación del cierre y apertura de los estomas y un mecanismo concentrador de CO₂ por la capacidad que tienen de fijarlo durante la noche y almacenarlo en las vacuolas, principalmente en forma de ácido málico, el cual durante el día se descarboxila y el CO₂ se incorpora al ciclo de Calvin-Benson y es reducido a carbohidratos esenciales para el crecimiento (Lambers *et al.*, 1998; Taiz y Zeiger, 2006).

Este tipo de metabolismo del carbono le confiere a la planta una estructura suculenta por la alta eficiencia del uso del agua debido al control del cierre y apertura de estomas con el fin de reducir al máximo la transpiración (Hopkins, 2004).

Las cactáceas presentan hábitos y estructuras anatómicas de adaptación altamente especializados que les imparten una fisonomía particular. De estas estructuras especializadas se considera responsable el medio árido en que la mayoría crece y la adaptación posterior de otras a la vida epífita o trepadora en las selvas tropicales húmedas (Bravo-Hollis y Scheinvar, 1995).

Algunas familias de plantas, alcanzan su máxima diversidad en el país, tanto en número de especies como en formas biológicas y muchas de estas especies son endémicas de México. Un ejemplo de ello es la Familia Cactaceae (**Tabla 4**), de cuyos 913 taxones entre especies (669) y subespecies (244) mexicanas, éstas están agrupadas en 63 géneros, de los cuales 25 géneros, 518 especies y 206 subespecies son endémicos de México. Aun cuando esta familia es originaria de Sudamérica, el alto endemismo de otras familias de plantas indica que México es su más probable centro de origen y evolución (Challenger, 1998; Guzmán *et al.*, 2007).

La Familia Cactaceae, constituye un grupo de origen americano que se distribuye desde Canadá hasta La Patagonia prevaleciendo en ambientes áridos y algunas especies se desarrollan en ambientes húmedos (Sánchez-Mejorada, 1982). Según las clasificaciones más recientes, este grupo se ubica en las Eudicotiledóneas (Tricolpadas), en el orden Caryophyllales junto a Nyctaginaceae, Phytolaccaceae, Aizoaceae, Portulaccaceae, Caryophyllaceae y Amaranthaceae (Judd *et al.*, 2002).

Tabla 4. Diversidad de Cactáceas en 34 países del continente Americano (Hunt, 1999; Guzmán *et al.*, 2007; Hernández y Godínez, 1994).

País	Total de Géneros	Géneros Endémicos (%)	Total de especies	Especies Endémicas (%)	Especies Amenazadas (%)
México	63	25 (39)	669	518 (78)	35
Brasil	35	14 (40)	237	176 (74)	20.2
Perú	33	6 (18)	223	70 (76)	10.7
Bolivia	30	4 (13)	240	153 (64)	0.8
Argentina	26	3 (12)	258	158 (61)	5
Estados Unidos	26	1 (4)	202	86 (43)	13.3
Paraguay	19	0	81	25 (31)	0
Ecuador	18	2(11)	43	15 (35)	29
Guatemala	18	0	42	4 (10)	6.7
Colombia	17	0	35	6 (17)	0
Honduras	16	0	30	2 (7)	10.5
Venezuela	16	0	39	6 (15)	0
Cuba	15	0	48	25 (25)	24
Chile	13	1 (8)	104	83 (80)	67.3
Costa Rica	13	0	40	12 (30)	6.3
Nicaragua	13	0	20	0	0
Haití	12	0	23	5 (22)	7.7
República Dominicana	11	0	27	3 (11)	0
Trinidad y Tobago	11	0	13	0	0
Uruguay	11	0	51	14 (27)	0
Antillas holandesas	10	0	15	1 (7)	0
Jamaica	10	0	15	4 (27)	0
Panamá	10	0	22	1 (5)	0
Puerto Rico	10	0	18	5 (28)	7.7
Antillas	9	0	18	1 (6)	0
El Salvador	9	0	11	1 (9)	0
Guyana	8	0	9	0	0
Islas Vírgenes	7	0	10	0	11.1
Surinám	7	0	9	0	22.2
Belice	6	0	10	0	0
Guayana Francesa	6	0	6	0	20
Bahamas	5	0	9	2 (22)	0
Islas Caimán	5	0	7	0	0
Canadá	2	0	3	0	0

Importancia y algunos usos de la Familia Cactaceae

La Familia Cactaceae, tienen un papel importante debido a las numerosas interacciones ecológicas en las zonas en donde habitan, puesto que sirven como refugio y alimento de animales, evitan la erosión eólica y pluvial gracias a su sistema

radical desarrollado y a su gran adaptabilidad a factores climáticos adversos y extremos. La historia registra que las cactáceas adquirieron importancia entre las tribus prehispánicas, según se deduce de sus tradiciones, teogonías, códices y de los numerosos nombres con que las designaron y que aún persisten en nuestros días, esto es debido a su utilización como alimento, bebidas, medicina, forraje, materia prima para la construcción de viviendas y cercas vivas, para retener el suelo, como armas de caza y pesca, con fines mágico religiosos y como plantas de ornato (Becerra, 2000; Bravo-Hollis, 1978).

Como alimento humano, prácticamente todos los órganos de estas plantas son comestibles (raíces, tallos, flores, frutos y semillas). Los tallos jóvenes de varias especies del género *Opuntia*, conocidos como nopales, así como también sus frutos conocidos como tunas, son consumidos dentro y fuera del país, mientras que otros frutos de cactáceas como las pitayas, pitahayas, tunillos, teteches, garambullos y xoconostles, son recolectados tradicionalmente por los habitantes de las zonas áridas y semiáridas para su consumo (Becerra, 2000; Bravo-Hollis, 1978).

Además de su uso como alimento, el uso de las cactáceas en la medicina tradicional se remonta antes de la conquista debido a las propiedades farmacológicas de muchas de sus especies. Éstas se utilizan principalmente como remedios para curar o aliviar afecciones musculares, reumáticas, óseas, estomacales, diabetes, cardiovasculares y mentales (Bravo-Hollis, 1978).

La enorme riqueza de compuestos químicos que se han identificado en los tejidos de estas plantas tiene utilidad para los humanos o pueden llegar a tenerla, como las saponinas (esteroles), los látex que pueden producir hule, los flavonoides, los pigmentos, etc. (Hernández y Gódinez, 1997).

Problemática en la Conservación de las Cactáceas

A pesar de la riqueza de cactáceas en la flora mexicana, sus poblaciones naturales se ven disminuidas, por los graves problemas de conservación que existen. Entre los principales factores que afectan a la conservación se encuentran:

- a) Factores biológicos y ecológicos como la pérdida de la viabilidad de sus semillas, la baja sobrevivencia de las plántulas bajo condiciones de campo y la poca tasa de crecimiento de la mayoría de las especies, así como generalmente la necesidad de condiciones edáficas especializadas (Sánchez-Mejorada, 1982a). La mayoría de las cactáceas tiene la tendencia hacia el endemismo restringido, lo que las hace más vulnerables a cualquier efecto de sobrecolecta o destrucción de su hábitat (Hernández y Godínez, 1994).

- b) A que las poblaciones naturales de muchas especies han sido afectadas por las presiones del desarrollo humano, principalmente debido a la conversión de terrenos con vegetación natural para usos agrícolas y/o pecuarios (Corona y Chávez-Ávila, 1982; Sánchez-Mejorada, 1982; Hernández y Godínez, 1994).
- c) Sobrecolecta del recurso debido a su atractivo estético, a la rareza de sus formas y a la belleza de sus flores, lo cual ha provocado en el hombre gran fascinación por los cactus lo que provoca actividades de extracción de las plantas de su hábitat para su venta como plantas de ornato en mercados nacionales e internacionales por la remuneración económica de su venta legal, pero sobre todo ilegal (Sánchez-Mejorada, 1982). Los miembros de esta familia han alcanzado un valor muy importante como plantas de ornato tanto en el mercado nacional como en el internacional, esto ha provocado que las plantas sean extraídas de su hábitat natural para formar parte de colecciones privadas en todo el mundo (Bravo-Hollis y Scheinvar, 1995; Becerra, 2000; Benítez y Dávila, 2002; Hernández y Godínez, 1994).

A pesar de que en la actualidad las medidas de protección de los ambientes silvestres son más eficientes, el saqueo ilegal se sigue llevando a cabo, principalmente para satisfacer el mercado nacional e internacional. Esta práctica ha provocado la disminución de las poblaciones naturales de cactáceas, sin embargo, no es lo único que las coloca en una situación de riesgo, también se añade la conversión de terrenos para su uso agrícola o pecuario y el crecimiento urbano que invade los ambientes en donde crecen (Bravo-Hollis y Scheinvar, 1995; Becerra, 2000; Benítez y Dávila, 2002).

En años recientes, países europeos y asiáticos, han sido destinos populares para plantas, semillas y frutos de cactus poco comunes y valiosos colectados ilegalmente desde los Estados Unidos y México (**Tabla 5**), (Reed, 1997). Incluso los frutos y partes de cactus usados en la producción tradicional de alimentos (Robbins, 2003).

Uno de los géneros de las cactáceas comercializados a nivel internacional es el de *Mammillaria*, con alrededor de 150 especies, su centro de distribución es en México y muchas de estas especies se encuentran distribuidas en pequeñas áreas dentro del país. Aunque este género es frecuentemente cultivado, sus poblaciones naturales han sido explotadas para abastecer la demanda comercial de especímenes de mayor edad (Oldfield, 1997).

Tabla 5. Principales países involucrados en el comercio de cactáceas y otras suculentas con problemas específicos relacionados con su regulación (Oldfield, 1997).

País	Importación/Exportación	Problemas relacionados para el control y comercio de cactáceas y otras suculentas
Austria	Importa y exporta	Exporta especies silvestres catalogadas en el Apéndice I de CITES hacia otros países Europeos, Principalmente Italia. Confiscación de 49 kg de cactáceas mexicanas en agosto de 1993.
Bélgica	Importa y exporta	Cactáceas mexicanas enlistadas en el Apéndice I de CITES comercializadas.
Bolivia	Exporta	Plantas colectadas ilegalmente para su comercialización hacia países europeos.
Brasil	Exporta	Exportación de grandes cantidades de semillas, dañando sus poblaciones naturales.
Canadá	Importa y exporta	Es uno de los países con mayor comercio de cactáceas
Chile	Exporta	Extracción ilegal de cactáceas, principalmente del género <i>Copiapoa</i> hacia países europeos.
República Dominicana	Importa y exporta	Principal intermediario de cactáceas y otras suculentas, para su comercio en otros países.
Francia	Importa y exporta	Extracción ilegal de Cactáceas mexicanas enlistadas en el Apéndice I de CITES comercializadas.
Alemania	Importa y exporta	Extracción ilegal de Cactáceas mexicanas enlistadas en el Apéndice I de CITES comercializadas.
Italia	Importa y exporta	Extracción ilegal de Cactáceas mexicanas enlistadas en el Apéndice I de CITES comercializadas.
Japón	Importa y exporta	Extracción ilegal de cactáceas y comercialización
Corea	Importa y exporta	Uno de los países con mayor comercio de cactáceas
México	Exporta	País de donde se extraen ilegalmente cactáceas para su comercio. Las legislaciones nacionales no han sido efectivas para prevenir la colecta ilegal de plantas para su comercio durante los últimos 40 años.
Países Bajos	Importa y exporta	Uno de los países de mayor tráfico de suculentas a nivel internacional.
Perú	Exporta	De acuerdo con reportes de CITES, las cactáceas silvestres comercializadas son propagadas artificialmente. Sin embargo han sido consignados cactáceas colectadas ilegalmente para su exportación a Estados Unidos y Europa.
Estados Unidos	Importa y exporta	Legislaciones del comercio de plantas dificultan la legítima exportación de cactáceas y otras suculentas por medios artificiales.

La industria de viveros en México no está usando su capacidad como productor y exportador líder de cactus y otras plantas suculentas endémicas al país. México todavía tiene una abundancia de capital natural y humano para desarrollar una industria viable de viveros de cactus. Ese esfuerzo se ha visto entorpecido por requisitos gubernamentales onerosos y oscuros, y una falta de inversión por parte del

sector privado. La escasez de viveros y la falta de material biológico de propagación para cumplir con la demanda extranjera probablemente aumenten la incidencia de recolección y comercio ilegal de cactus, que continua amenazando las poblaciones silvestres (Robbins, 2003).

Las cactáceas son un grupo de plantas que actualmente en su gran mayoría se encuentran amenazadas o en peligro de extinción en sus hábitats naturales, por lo cual, es urgente la aplicación de acciones que ayuden a conservar dichas especies y sus ambientes (Olalde, 2001).

Aporocactus es un género endémico de nuestro país perteneciente a la tribu Hylocereeae, siendo de importancia ornamental, es altamente colectado para su venta, por lo que se encuentra catalogado en protección especial (Pr) bajo la NOM-059-ECOL-2001 y en el Apéndice II de CITES, por lo que su propagación es indispensable para su conservación.

Descripción Botánica

Tribu Hylocereeae Buxbaum 1958

Cactáceas trepadoras o epifitas. Con raíces adventicias. Tallos aplastados o con pocas costillas; zonas reproductivas indiferenciadas. Glóquidas ausentes. Hojas no evidentes. Flores terminales laterales, de medias a largas, con frecuencia nocturnas pero a veces diurnas; aréolas del pericarpelo desnudas, con espinas, cetosas, o pilosas. Frutas carnosas, indehiscentes. Semillas de medias a largas. Hilo y micrópilo fusionados, con un mucílago envainado cubriendo completamente la semilla. Distribución: Bosques tropicales de América Central.

Géneros incluidos dentro de la tribu (**Figura 1**) Hylocereeae: *Aporocactus* (*Disocactus*), *Epiphyllum*, *Hylocereus*, *Pseudorhipsalis*, *Selenicereus* y *Weberocereus* (Anderson, 2001).

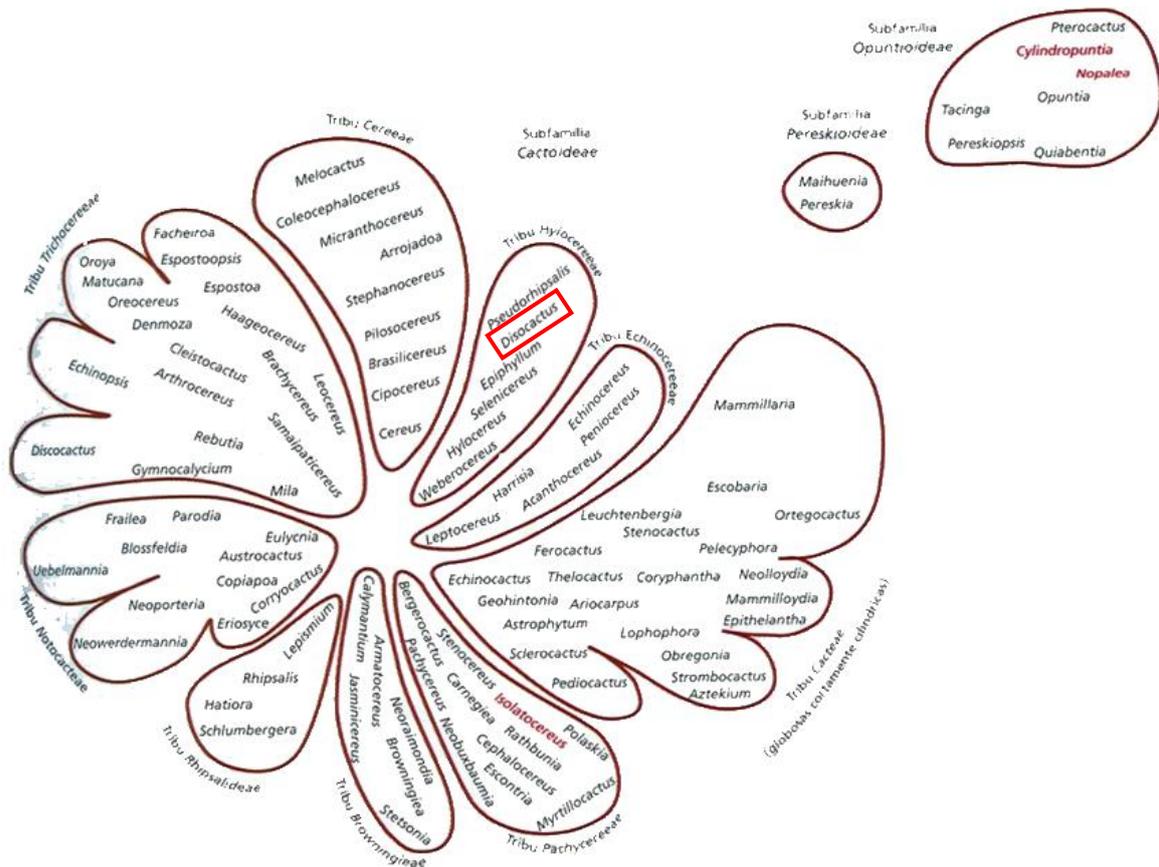


Figura 1. Diagrama representativo de la clasificación de la Familia Cactaceae, en la que se reconocen 97 géneros, distribuidos en 3 subfamilias: *Pereskioideae*, *Opuntioideae* y *Cactoideae*. Esta última comprende 9 tribus: *Echinocereae*, *Hylocereeae*, *Cereae*, *Trichocereae*, *Browningieae*, *Pachycereae* y *Cacteae*. (Scheinvar, 2004)

Características y descripción Botánica del Género *Aporocactus*

Aporocactus Lemaire, Illustr. Hort. 7 Misc. 67. 1860.

Cereus Miller Subgénero *Aporocactus* Berger, Kakteen 109. 192 *Aporoceresus* Fric y Kruzing, nom. nud. 1934

Tallos delgados, largos, algo ramificados con raíces adventicias, rastreros o pendulosos. Costillas de 8 a 12, provistas de tubérculos pequeños. Aréolas próximas. Espinas cortas y numerosas que a veces cubren el tallo. Flores una en cada aréola, más bien pequeñas, diurnas, infundibuliformes, zigomorfas, con el tubo encorvado y el limbo algo oblicuo, rosa purpúreo o rojizo claro; pericarpelo con escamas pequeñas y aréolas setosas; tubo receptacular del mismo color que el perianto lineares, al principio erectos después más o menos recurvados hacia afuera, dispuestos irregularmente; segmentos interiores del perianto anchos; estambres exsertos. Fruto globoso, pequeño, rojizo, setoso. Semillas escasas, obovoides, de color café.

El término *Aporocactus* deriva del griego y significa “cactus impenetrable” por la abundante cantidad de espinas que cubren por completo el tallo.

Las especies crecen como epífitas o epilíticas en altitudes cercanas o superiores a los 2000 m.s.n.m., en bosques tropicales subperennifolios, tropicales caducifolios, de *Quercus* y *Pinus*.



Figura 2. *Aporocactus flagelliformis*. Ejemplares en su hábitat, en las cercanías de Zacualtipan, Hgo (Bravo-Hollis, 1978).

Aporocactus flagelliformis (Linné) Lemaire, *Illustr. Hort*, 7: Misc., 68. 1869

Tallos al principio ascendentes o erectos, más tarde péndulos (**Fig. 3a**), a menudo postrados o rastreros (**Fig. 3b**), ramificados, de 1 a 2 cm de diámetro, hasta 2 m de largo, cuando jóvenes de color verde claro, después grisáceo. Costillas 10 a 12 bajas, algo tuberculadas. Aréolas distantes entre sí, 6 a 8 mm, pequeñas al principio con tricomas blancos, después grisáceo. Espinas radicales, 8 a 12, aciculares color café rojizo. Espinas centrales 3 o 4, morenas con la punta amarilla. Flores numerosas a lo largo de los tallos, algo zigomorfas, de 7 a 8 cm de largo, de color carmesí (**Fig. 2c**); segmentos exteriores del perianto angosto, más o menos reflexos; segmentos interiores del perianto purpúreos, más anchos y ligeramente extendidos. Fruto globoso, pequeño, de 10 a 12 mm de diámetro, rojo, con cerdas; pulpa amarillenta (Bravo-Hollis, 1978).

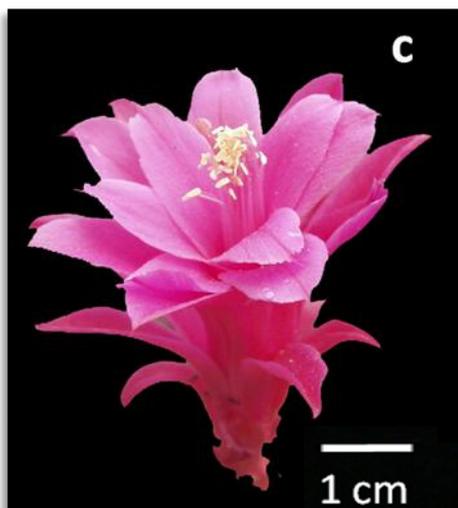


Figura 3. *Aporocactus flagelliformis*. a) Planta con tallos péndulos y flores a lo largo del tallo. b) Planta en floración con tallos rastreros. c) Flor.

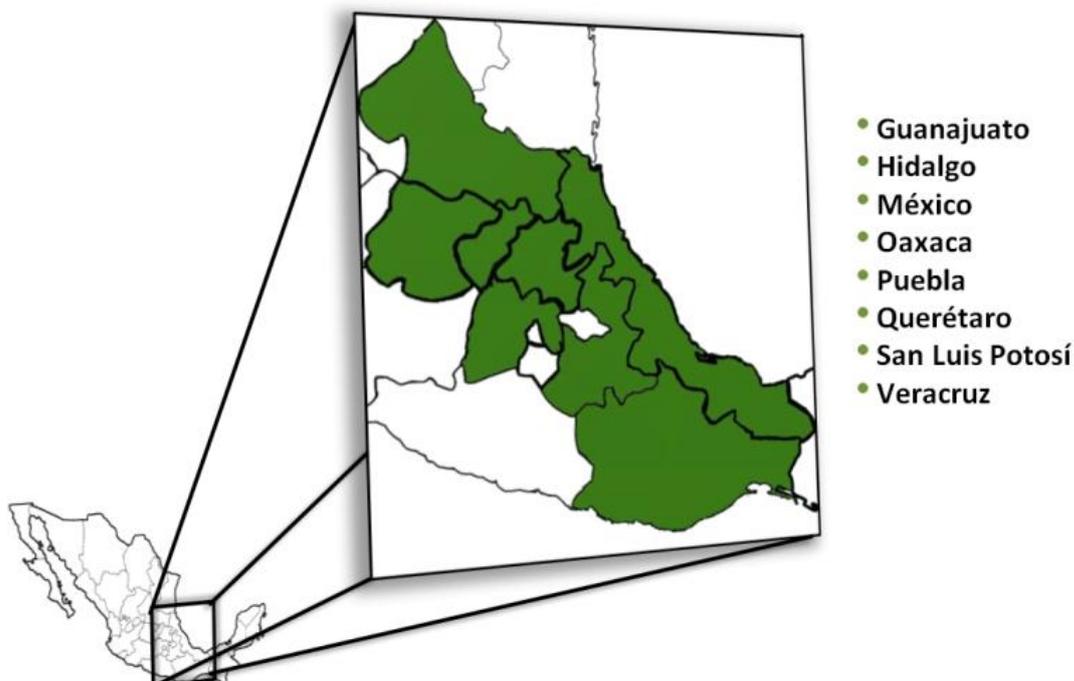
Clasificación Taxonómica (Bravo-Hollis, 1978)

Reino:	Plantae
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Caryophyllidae
Orden:	Caryophyllales
Familia:	Cactaceae
Subfamilia:	Cactoideae
Tribu:	Hylocereeae
Género:	<i>Aporocactus</i>
Especie:	<i>Aporocactus flagelliformis</i> (Linné) Lemaire 1869

Nombre común: Aporocactus, Cactus de cola de rata, Cactus colgante, Flor del cuerno, Flor de Junco, Flor del látigo, Yerba de la alferecia, Huitzocuitlapile, Floricuerno, Junco, Junquillo, Nopalillo.

Distribución

Aporocactus flagelliformis es una especie endémica de México de los Estados de Guanajuato, Hidalgo, México, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí y Veracruz. (**Mapa 1**). Ha sido reportada en diferentes tipos de vegetación como bosque tropical caducifolio y bosque mesófilo de montaña.



Mapa 1. Distribución de *A. flagelliformis*, (Guzmán *et al*, 2003).

Situación actual de *A. flagelliformis*

Bravo-Hollis, (1978) reportó que *A. flagelliformis* ha sido cultivada en México desde la época precolombina y solo se le conoce en cultivo; aún cuando existen reportes de haberse encontrado silvestre, como los análisis florísticos realizados por Alcántara-Ayala y Luna-Vega (2001) y Ponce-Vargas *et al.*, (2006), ambos realizados en bosques mesófilos de montaña, en el estado de Hidalgo, en las comunidades de Eloxochitlán y Tlahuelompa, y Lolotla respectivamente, en el cual encontraron poblaciones naturales de *A. flagelliformis*.

Florece con profusión de abril a mayo, se cultiva de manera que los tallos crezcan colgando. Existen algunos híbridos interespecíficos o logrados por cruzamiento con otros géneros, sin embargo a pesar de ser cultivada, no se han encontrado trabajos acerca de su reproducción o propagación, por métodos convencionales o por cultivos *in vitro*.

Aguilar (1994) y Bravo-Hollis, (1978) reportan que esta planta se emplea en medicina popular, se hace en infusión con las flores así como los tallos, para esto se ponen a secar las flores y los tallos con las que se hará el té, y éste se toma en ayunas; es bueno para padecimientos del corazón, así como para el control de la diabetes.

Es investigado el potencial farmacológico de las cactáceas con miras a encontrar alguna aplicación en la cura de enfermedades mentales, ya que poseen una variedad de compuestos químicos como los alcaloides que se han utilizado para tratar neurosis, esquizofrenias y migrañas. Se les considera medicamentos potenciales contra diabetes (**Tabla 6**), por lo que hay en marcha investigaciones para entender su uso potencial terapéutico (Bravo-Hollis y Scheinvar, 1995).

Olalde (2000), reportó que las localidades de Hidalgo donde fue colectada la planta es de bosque mesófilo a una altitud de 2 200 m; realizando una intensa búsqueda sólo encontró 3 plantas de hábito rupícola y otra de hábito epífito, estas localidades se encuentran ampliamente perturbadas por la expansión de asentamientos humanos, actividades agrícolas y ganaderas, por lo que las poblaciones de *A. flagelliformis*, han desaparecido de algunas localidades y han disminuido de manera alarmante en otras. Por lo que esta especie se encuentra catalogada bajo Protección Especial por la NOM-059-ECOL-2001, así como en el Apéndice II de la CITES, por lo que su estudio, propagación y conservación son de gran importancia.

Los jardines botánicos al igual que los herbarios tienen el compromiso, de realizar investigaciones que ayuden a la conservación y estudio de las diversas familias vegetales, primordialmente especies con potencial ornamental, medicinal, y/o que estén en algún estatus de protección, por lo que se realizó una visita al Herbario

Nacional del IMSS de la Ciudad de México, donde se encontraron 3 ejemplares herborizados de *A. flagelliformis* (Figura 4), reportando su uso medicinal para diferentes padecimientos (Tabla 7).

Tabla 6: Plantas de la Familia Cactaceae reportadas en México para el control de la diabetes (Andrade-Cetto, 2005).

Nombre científico	Nombre común	Parte de la planta usada y su preparación	Información fitoquímica
<i>Aporocactus flagelliformis</i> (L.) Lem.	Flor de Junco	Infusión de flores y tallo	-
<i>Nopalea cochenillifera</i> (L.) Salm-Dyck	Nopal	Tallo crudo	-
<i>Nopalea inaperta</i> Schott ex Griffiths.	Nopal	Tallo crudo	-
<i>Opuntia atropes</i> Rose	Nopal Bianco	Tallo crudo	-
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill	Nopal	Tallo crudo	Alcaloides, flavonoides
<i>Opuntia fulgida</i> Engelm.	Choya	Tallo crudo	-
<i>Opuntia guilanchi</i> Griffiths	Nopal Blanco	Tallo crudo	-
<i>Opuntia imbricata</i> (Haw) DC.	Xoconostle	Tallo crudo, fruta	-
<i>Opuntia leucotricha</i> DC.	Duraznillo	Tallo	-
<i>Opuntia megacantha</i> Salm-Dyck	Nopal blanco	Tallo crudo	-
<i>Opuntia streptacantha</i> Lem	Nopal	Tallo crudo	-
<i>Pachycereus marginatus</i> (DC.) Britton & Rose	Órgano, Sahuaro	Tallo crudo	-
<i>Pachycereus pringlei</i> (S. Watson) Britton & Rose	Cardón	Tallo crudo	-
<i>Rhipsalis baccifera</i> (J.S.Muell.) Steam	Niguilla	Infusión del tallo, fruta cruda	-
<i>Stenocereus marginatus</i> (DC.) Berger & Buxb	Órgano de Zopilote	Tallo cocido	-

Tabla 7. Ejemplares y literatura citada, para el uso medicinal de *A. flagelliformis*.

Consultado	Uso Medicinal	Modo de empleo	Referencia (Año)
Ejemplar A ¹	Mal de corazón	Tallo y flor, se combinan con flor de mano	Aguilar (1983).
Ejemplar B ¹	Hipotensor	Flor	Aguilar (1980).
Ejemplar C ¹	Mal de corazón	Flor en té	Sánchez-Mejorada (1978)
Catálogo del IMSS	Control de la Diabetes y mal del corazón	Tallo y flores	Aguilar, (1994)
Las cactáceas de México	Mal de corazón	Infusión de flor y tallo	Bravo-Hollis (1978)
Plantas mexicanas con efectos hipoglucemiantes usados para el tratamiento de la diabetes	Control de la diabetes	Infusión de flor y tallo	Andrade-Cetto, (2005)

¹ Ejemplares herborizados del Herbario Nacional del IMSS. Ver figura 4



Figura 4. Ejemplares herborizados de *A. flagelliformis*, en el Herbario Nacional del IMSS. Ciudad de México. A) Ejemplar colectado por J. Camacho (1983), determinó Abigail Aguilar, uso medicinal: para el mal de corazón. B) Ejemplar colectado por Sergio Espinosa (1980) determinó Abigail Aguilar, uso medicinal: hipotensor, C) Ejemplar colectado por Ma. Porras (1978), determinó Sánchez-Mejorada, uso medicinal: la flor en te para el corazón.

Además de la importancia medicinal, *A. flagelliformis* se utiliza en mercados de la Ciudad de México como planta ornamental, por lo que se recorrieron diversos mercados de plantas de la delegación Xochimilco de la Ciudad de México en busca de ejemplares de *Aporocactus flagelliformis*. En los cuales se encontró un total de 28 plantas, distribuidas en 8 de 11 puestos dedicados al cultivo de cactáceas y otras suculentas en 3 de los 5 mercados más importantes de la delegación, en los meses de marzo a abril del 2009 (Tabla 8).

Tabla 8. Ejemplares encontrados en diversos mercados de plantas de la delegación Xochimilco, en los meses de marzo y abril de 2009.

Mercado	Comercio	Ejemplares	Floración	Precio \$ (\bar{x})	Fecha
Madre Selva	1	2	Si	150 a 200	Marzo/09
	2	2	Si	200	
Deportivo Xochimilco	1	1	No	100	Abril/09
	2	1	No	100	
	3	12	No	60	
Cuemanco I	1	2	Si	100	Abril/09
	2	7	Si	80-150	
	3	1	No	80	
Cuemanco II	-	-	-	-	Abril/09
Centro de Xochimilco	-	-	-	-	Abril/09
N. Total	8	28	-	100	

A pesar de que *A. flagelliformis* se encontró en puestos donde su venta principal son especies de la Familia Cactaceae y otras suculentas, el cultivo de esta especie es diverso, ya que se presenta para la venta al público en macetas normales, colgantes y en latas de aluminio, las cuales alcanzan precios mayores a los 150 pesos cuando se encuentran en floración (**figura 5**), de igual forma las mezclas de sustrato para su cultivo son muy diversas, se encontró en tezontle solo, tezontle mezclado con tierra, tierra sola, y en hojas de pino, por lo que su cultivo resulta afectado y por consiguiente es difícil su mantenimiento y reproducción por esquejes, la comercialización de esta especie se hace a partir de plantas extraídas del campo o por medio de esquejes a partir de diversas plantas madre, las cuales tardan aproximadamente de 2 a 4 años para su comercialización (conversación personal con vendedor de Xochimilco).

Aunque Bravo-Hollis (1978) reportó su cultivo desde la época precolombina, en la actualidad se ve afectada por las condiciones de invernadero en las que se encuentra donde la luz, temperatura, humedad y riego no son adecuadas para su cultivo y pudieran morir estas plantas al cabo de unos años o inclusive meses.





Figura 5. Ejemplares de *A. flagelliformis* en diversos mercados de la Delegación Xochimilco. A) Plantas en floración, B) Plantas en condiciones inadecuadas de cultivo, C) Plantas cultivadas en envases de aluminio.

Aunado a este comercio ilegal de plantas en mercados de Xochimilco, CITES (2001), reporta una lista de géneros que son anunciados para su venta ilegal por internet: *Acanthocereus*, *Acharagma*, *Ancistrocactus*, *Aporocactus*, *Ariocarpus*, *Astrophytum*, *Aztekium*, *Bartschella*, *Carnegiea*, *Cephalocereus*, *Coryphantha*, *Cylindropuntia*, *Disocactus*, *Echinocactus*, *Echinocereus*, *Echinomastus*, *Encephalocarpus*, *Epiphyllum*, *Epithelantha*, *Escobaria*, *Escontria*, *Ferocactus*, *Geohintonia*, *Glandulicactus*, *Grusonia*, *Hylocereus*, *Leuchtenbergia*, *Lophocereus*, *Lophophora*, *Mammillaria*, *Mammilloidia*, *Marginatocereus*, *Melocactus*, *Mitrocereus*, *Myrtillocactus*, *Neobuxbaumia*, *Neoevansia*, *Neolloydia*, *Obregonia*, *Opuntia*, *Ortegocactus*, *Pachycereus*, *Pelecypora*, *Peniocereus*, *Pereskopsis*, *Pilosocereus*, *Polaskia*, *Rhipsalis*, *Selenicereus*, *Stenocactus*, *Stenocereus*, *Strombocactus*, *Thelocactus*, *Turbinicarpus*, *Wilcoxia*.

Así mismo indican los Estados de México de donde provienen las cactáceas en venta: Aguascalientes, Baja California Norte, Baja California Sur, Chihuahua, Coahuila, Colima, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas, Veracruz, Zacatecas.

Día a día la desaparición de especies de la flora silvestre se agudiza a ritmo acelerado, exigiendo la aplicación de medidas globales, regionales y locales que disminuyan el impacto de las actividades humanas sobre las poblaciones naturales y conlleve a la protección y conservación de las especies, ecosistemas y los procesos esenciales para la vida, desarrollando programas y estrategias para la conservación de la biodiversidad mundial (Franco-Martínez, 1997).

Tratados de conservación de cactáceas

Actualmente existen instituciones que se encargan de generar listados donde indican en qué categoría de riesgo se encuentran las especies. A nivel nacional está la Norma Oficial Mexicana (NOM-059-ECOL-2001), listado que señala cuales son las especies de flora y fauna silvestres de México que se encuentran en alguna de las siguientes categorías: probablemente extintas en el medio silvestre (E); en peligro de extinción (P); amenazadas (A); sujetas a protección especial (Pr); además de señalar aquellas que son endémicas (SEMARNAT, 2002).

De la flora mexicana, la NOM-059-ECOL-2001, incluye 92 familias y 949 especies, de plantas fanerógamas y hongos, de las cuales 466 (49%), son endémicas. El 46% de especies vegetales protegidas bajo la Norma Oficial se encuentran en la categoría de raras y tan sólo el 14% se considera en peligro de extinción. Las familias con mayor número de especies amenazadas o en peligro son las cactáceas, agaves, palmas, cícadadas y orquídeas. En la familia de las cactáceas, se registran 285 especies en alguna categoría de riesgo, de las cuales 247 son endémicas, 89 se presentan amenazadas, 166 sujetas a protección especial y 30 en peligro de extinción (SEMARNAT, 2002).

A nivel internacional, se encuentra la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN o IUCN) encargada de señalar cuáles son las especies de flora y fauna extintas en estado silvestre, en peligro de extinción, vulnerables y las que se encuentran en menor riesgo (IUCN, 1994).

Otra organización es la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES) que cumple con la función de regular el comercio y explotación de especies de flora y fauna, catalogándolas en apéndices. En el Apéndice I se incluyen todas las especies en peligro de extinción que están sometidas a comercio internacional: su comercio está prácticamente prohibido salvo en casos excepcionales, tales como el intercambio científico o de ejemplares propagados artificialmente en viveros registrados ante la Secretaria de CITES. En el Apéndice II se encuentran aquellas especies que no necesariamente están en peligro de extinción pero si no se controla su comercio podrían llegar a estarlo (CITES, 2003).

La Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES, 1990) incluye a toda la Familia Cactaceae en el Apéndice II y un considerable número de especies de cactus (64 spp.) se encuentran en el Apéndice I. Mientras que la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN) incluidas en la Lista Roja de Plantas Amenazadas se encuentran 286 especies de cactáceas mexicanas y en la Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales

(SEMARNAT) incluye 285 especies en la NOM-059-ECOL-2001 (**Tabla 9**) (Gómez-Hinostrosa y Hernández, 2000).

Tabla 9. Algunas especies de la Familia Cactaceae en México, enlistadas en diversas categorías de riesgo (Guzmán *et al.*, 2007).

Nombre Científico	Nombre Común	Categoría			Distribución
		Nom-059-Ecol-2001	CITES	IUCN	
<i>Aporocactus flagelliformis</i>	cactus-junco floricuerno	Pr	II	-	E
<i>Ariocarpus agavoides</i>	biznaga-maguey pequeño	Pr	I	VU	NE
<i>Ariocarpus fissuratus</i>	biznaga peyotillo	P	I	VU	E
<i>Ariocarpus kotschoubeyanus</i>	biznaga-maguey pata de venado	Pr	I	NT	NE
<i>Ariocarpus retusus</i>	biznaga-maguey peyote cimarrón	Pr	I	-	NE
<i>Astrophytum asterias</i>	biznaga-algononcillo de estrella, cacto estrella	P	I	VU	E
<i>Aztekium ritteri</i>	biznaga-piedra viva	A	I	-	E
<i>Backebergia militaris</i>	órgano-de gorro tiponche	Pr	I	-	E
<i>Echinocactus grusonii</i>	biznaga-tonel dorada	P	II	CR	E
<i>Lophophora diffusa</i>	peyote de Querétaro	A	II	VU	E
<i>Mammillaria bocasana</i>	biznaga de la Sierra de Bocas	Pr	II	-	E
<i>Mammillaria berkiana</i>	-	-	II	CR	E
<i>Mammillaria bombycina</i>	biznaga de seda	Pr	II	-	E
<i>Mammillaria carmenae</i>	biznaga de la Reja	P	II	-	E
<i>Mammillaria crucigera</i>	biznaga con espinas en cruz	Pr	II	-	E
<i>Mammillaria duwei</i>	-	Pr	II	EN	NE
<i>Mammillaria guelzowiana</i>	biznaga de Durango	A	II	CR	E
<i>Mammillaria herrerae</i>	biznaga bola de hilo	P	II	CR	E
<i>Mammillaria luethyi</i>	-	-	II	EN	E
<i>Mammillaria schiedeana</i>	biznaga de Metztlán	Pr	II	-	E
<i>Obregonia denegrii</i>	biznaga de Obregón	A	I	VU	E
<i>Strombocactus disciformis</i>	biznaga-trompo	A	I	-	E
<i>Turbinicarpus alonsoi</i>	-	-	I	CR	E
<i>Turbinicarpus booleanus</i>	-	-	I	CR	E
<i>Turbinicarpus gielsdorfianus</i>	biznaga-cono invertido de Gielsdorf	P	I	CR	E
<i>Turbinicarpus hoferi</i>	biznaga-cono invertido de Hofer	A	I	CR	E
<i>Turbinicarpus pseudopectinatus</i>	peyotillo pectinado	Pr	I	VU	NE
<i>Turbinicarpus zaragozae</i>	-	-	I	VU	E

P= Peligro de Extinción, A= Amenazada, Pr= Protección especial, I= Taxón incluido en Apéndice I de CITES, estas especies están en peligro de extinción y la CITES prohíbe el comercio internacional de especímenes de esta especie, II= Taxón incluido en Apéndice II de CITES, figuran especies que no están necesariamente amenazadas de extinción pero que podrían llegar a estarlo a menos que se controle estrictamente su comercio. CR= En peligro crítico, EN= En peligro, VU= Vulnerable, NT= Casi amenazada. NE= No endémica, E= Endémica

Los listados sirven para que las autoridades competentes de cada país propongan estrategias de conservación de las especies que se encuentren en algún grado de riesgo. La conservación es una disciplina dedicada a la preservación, rescate, mantenimiento, estudio y utilización de la biodiversidad y se puede realizar de dos maneras: *in situ* y *ex situ*, las cuales son complementarias, permitiendo garantizar la biodiversidad genética a mediano y largo plazo (Pezoa, 2001).

Para preservar la diversidad de cactáceas en América, primero es necesario identificar los países o regiones políticas con alta diversidad biológica. Basado en estos análisis, es posible definir los países prioritarios para la conservación de este grupo de plantas donde un soporte financiero debe proveerse. Estos países deben de tener acciones a través de proyectos nacionales e internacionales para preservar su diversidad de cactus (Ortega-Baes y Godínez-Álvarez, 2006).

De acuerdo con el Grupo especialista de cactáceas y suculentas de la UICN, se deben de realizar acciones para la conservación de cactáceas enfocadas principalmente en:

1. Estudios taxonómicos
 2. Evaluación de los estatus de conservación de las especies
 3. Protección *in situ*
 4. Protección *ex situ*
 5. Desarrollo de regulaciones nacionales eficientes para el tráfico de especies
 6. Control del tráfico de especies nacional e internacional
 7. Programas de educación
 8. Programas de propagación
- (Oldfield, 1997).

Conservación in situ

Se define como la conservación, mantenimiento y recuperación de poblaciones viables en sistemas dinámicos y evolutivos del hábitat natural o en el caso de especies cultivadas, en el entorno donde se hayan desarrollado sus características (Pezoa, 2001). Para esto se debe considerar la genética y dinámica de las poblaciones, así como sus aspectos ecológicos, reproductivos y fisiológicos (Falk, 1990).

Para la conservación de las cactáceas se han planteado varias alternativas. Tal es el caso de las Áreas Naturales Protegidas (ANP) que comprenden los Parque Nacionales y las Reservas de la Biosfera, éstas últimas son áreas representativas de uno o más ecosistemas no alterados por la acción del ser humano que requieran ser preservados o restaurados, en las cuales habitan especies representativas de la biodiversidad nacional, incluyendo a las consideradas endémicas, amenazadas o en peligro de

extinción; ejemplos de reservas de la Biosfera, en las cuales se encuentran un gran número de cactáceas, son las de Tehuacán-Cuicatlán (Puebla y Oaxaca), Sierra Gorda (Querétaro), Cuatrociénegas (Coahuila) y la Barranca de Meztitlán (Hidalgo), (Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas, 2005).

Conservación ex situ

Se define como la conservación de muestras genéticamente representativas de especies o cultivos que se mantienen viables a través del tiempo, fuera de su hábitat natural, en ambientes controlados y con el apoyo de tecnologías adecuadas (Pezoa, 2001). A partir de la conservación *ex situ* se generan grandes posibilidades de investigación sobre los componentes de la diversidad biológica, permitiéndose también que las instituciones involucradas en estas actividades participen en la difusión científica y la educación ambiental (UICN, 1994).

Es por esto que se recurre a la creación de jardines botánicos, bancos de germoplasma, bancos de semillas, cultivo de tejidos vegetales, criopreservación. Los bancos de germoplasma son colecciones de material vegetal vivo, ya sean plantas semillas, órganos, tejidos o células, que requieren la interacción de varias estrategias para su preservación. Sus funciones son localizar, recolectar y conservar plantas consideradas de interés prioritario para nuestro país, y de esta forma contribuir con el conocimiento científico orientado a la optimización de la conservación (Fay, 1994).

Los jardines botánicos, tienen la misión de rescatar y propagar plantas en peligro de extinción así como trabajar con las reservas biológicas para generar políticas de restauración ecológica y propagación de especies (Vovides *et al.*, 1997). Muchos Jardines botánicos, centros de investigación y asociaciones civiles se han encargado de la conservación de las cactáceas. Tal es el caso del Cactario Regional y Jardín Botánico “Hernando Sánchez-Mejorada” en Querétaro, El Jardín Botánico de la Universidad de Guadalajara y el Jardín Botánico de la UNAM entre otros (Becerra, 2000).

Métodos de propagación vegetal y su aplicación en cactáceas

Todos los estudios de propagación constituyen una opción muy importante que se suma a las arduas labores de conservación de esta familia, ya que garantizan la posibilidad de obtener especies de gran valor a través de métodos artificiales que podrían disminuir considerablemente la alta demanda de especímenes silvestres (Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000).

En la naturaleza, la propagación vegetal se lleva a cabo por dos vías, la asexual o vegetativa en la que sólo se producen clones de la planta madre y la sexual que

involucran recombinación y variabilidad genética a través de la producción de semillas (Razdan, 2003). La propagación convencional, representa una alternativa viable para los países que carecen de tecnologías y recursos económicos para el aprovechamiento comercial de sus recursos naturales como son las cactáceas y otras plantas suculentas. Debido a su bajo costo, se ajusta a las necesidades de nuestro país, en donde existen pocos laboratorios que produzcan comercialmente estas especies con potencial ornamental, sin embargo, la propagación convencional no es suficiente, ya que muchos individuos podrían desaparecer por diversos factores antropogénicos, quedando en el ambiente, pocas plantas que pudieran reproducirse entre sí, por lo que el cultivo de tejidos vegetales es una alternativa viable para la propagación de cactáceas. En las áreas rurales de México estos métodos de propagación convencional, se han aplicado con fines de aprovechamiento por los campesinos y de esta manera también se protege la colecta de ejemplares silvestres (Reyes *et al.*, 2006).

La propagación sexual es muy importante porque la mayoría de las cactáceas y suculentas producen una gran cantidad de semillas y por lo tanto permiten la obtención de plantas con variación genética, desafortunadamente muchas especies en riesgo producen pocas semillas (**Tabla 10**), por lo que la propagación sexual no es suficiente (Reyes *et al.*, 2006).

Tabla 10. Floración y producción de semillas de algunas especies de la Familia Cactaceae (Sánchez-Martínez *et al.*, 2006).

Especie	Periodo de floración	Flores/planta	Periodo de fructificación	Frutos/planta	Semillas/fruto	NOM	CITES
<i>Aporocactus flagelliformis</i> (L.) Lem.	marzo - junio	10 - 15	julio - agosto	5 - 10	20 - 25	Pr	II
<i>Ariocarpus kotschoubeyanus</i> (Lem.) K.	junio - octubre	4 - 7	febrero - mayo	1 - 4	20 - 40	Pr	I
<i>Astrophytum ornatum</i> (DC.) F. A. C. Weber ex Britton	marzo - junio y agosto - septiembre	6 - 15	julio - septiembre y enero - febrero	10 - 17	24 - 42	A	II
<i>Echinocactus platyacanthus</i> Link & Otto	abril - agosto	10 - 15	junio - noviembre	14	241 - 500	Pr	II
<i>Echinocereus schmollii</i> (Weing.) N. P. Taylor	febrero - Marzo	-	mayo - junio	-	10 - 20	p	I
<i>Ferocactus histrix</i> (DC.) G. E. Linds.	Febrero - mayo	5 - 10	abril - mayo	5	100 - 350	Pr	II
<i>Lophophora diffusa</i> (Croizat) Bravo.	marzo - septiembre	1 - 2	marzo - abril	-	10 - 15	A	II
<i>Mammillaria crinita</i> DC. Subsp. <i>painteri</i> (Rose ex Quehl) U. Guzmán	mayo - agosto	5 - 20	septiembre - octubre	8 - 12	20 - 30	Pr	II
<i>Mammillaria longimamma</i> DC.	abril - mayo	3 - 5	octubre - noviembre	2 - 3	50 - 100	A	II
<i>Mammillaria parkinsonii</i> C. Ehrenb.	febrero - abril	20 - 30	mayo - junio	8 - 10	25 - 35	Pr	II
<i>Strombocactus disciformis</i> (DC.) Britton & Rose	noviembre - abril	1 - 3	enero - marzo	1-2	100 - 250	A	I
<i>Thelocactus hastifer</i> (Werderm. & Boed.) F. M.	febrero - abril	2 - 6	junio - julio	1 - 4	20 - 50	A	II
<i>Turbincarpus pseudomacroechele</i> subsp. <i>pseudomacroechele</i>	diciembre - junio	1 - 3	febrero - marzo	1 - 2	25 - 33	P	I

P= Peligro de Extinción, A= Amenazada, Pr= Protección especial, I= Taxón incluido en Apéndice I de CITES, estas especies están en peligro de extinción y la CITES prohíbe el comercio internacional de especímenes de esta especie, II= Taxón incluido en Apéndice II de CITES, figuran especies que no están necesariamente amenazadas de extinción pero que podrían llegar a estarlo a menos que se controle estrictamente su comercio.

En cuanto a la propagación vegetativa, ésta se efectúa desprendiendo alguna parte de la planta madre, la cual puede formar raíces y establecerse como una planta independiente. Una ventaja importante de este tipo de propagación es la posibilidad de producir individuos nuevos más rápido que en la propagación sexual, sin embargo no existe una variabilidad genética, lo que en especies alógamas podría resultar perjudicial (Arias *et al.*, 2001). Algunas técnicas comunes de este tipo de propagación son:

- ◆ **Esquejes:** esta técnica se conoce también como estacado y consiste en la producción de nuevos individuos a partir de las ramificaciones de la propia planta. Estas ramificaciones se separan de la planta madre, deben cicatrizar en un lugar seco para que posteriormente formen raíces y sean plantados. Este método es útil en nopales, órganos y epífitas (Bravo-Hollis y Scheinvar, 1995; Arias *et al.*, 2001).
- ◆ **Vástagos:** son brotes que emergen de las aréolas de la planta madre que son desprendidos y una vez cicatrizada la herida pueden formar raíces y plantarse individualmente. Para evitar la proliferación de hongos y bacterias se esparce azufre en polvo sobre la herida antes de que los brotes sean plantados. Se utiliza comúnmente en formas globosas que forman clones como algunos de los géneros: *Mammillaria*, *Coryphantha* o *Notocactus*, entre otros (Bravo-Hollis y Scheinvar, 1995; Arias *et al.*, 2001). La ventaja de este método es la rápida obtención de plántulas adultas y la desventaja consiste en la carencia total de recombinaciones genéticas, importantes en la conservación (Reyes *et al.*, 2006).
- ◆ **Injertos:** esta técnica se emplea para acelerar el crecimiento de plántulas y vástagos cuando han perdido su sistema radicular. Básicamente se conectan con los sistemas vasculares de un injerto con el porta injerto o patrón para que éste proporcione los nutrientes necesarios para el desarrollo y rápido crecimiento del primero (Hartmann *et al.*, 1997). En cactáceas esta técnica se aplica generalmente en especies raras o en peligro de extinción que poseen características muy particulares o que tienen dificultad para crecer directamente en el suelo, o que no han logrado desarrollar raíces. Las especies más utilizadas como patrón o portainjerto son *Pereskiaopsis diguetii*, *Myrtillocactus geometrizans* e *Hylocereus spp.* (Bravo-Hollis y Scheinvar, 1995; Reyes *et al.*, 2006).

Las plantas se mantienen en un ambiente semejante al de su hábitat natural, con riegos periódicos para evitar la descomposición del tejido por exceso de humedad y con una circulación constante de aire seco en caso de especies desérticas, o con un

riego más frecuente en el caso de las especies epífitas. La temperatura en estas condiciones artificiales, generalmente establecidas en invernaderos, oscila entre 25° a 35° C, mientras que la intensidad luminosa debe ser alta pero controlada para evitar la fotoinhibición, los rayos UV les son favorables. En cuanto al sustrato, generalmente se trata de una mezcla de sustrato humoso y mineral (piedras de río, grava, tezontle o tepojal) en una porción 1:1 ó 1:2 respectivamente (Bravo-Hollis y Scheinvar, 1995).

Otra alternativa para la conservación de especies vegetales, es la micropropagación de numerosas plantas por medio del cultivo de tejidos vegetales, esto en ciertos casos permite la producción masiva de individuos a partir de solo un pequeño fragmento de tejido, al aprovechar la totipotencialidad de las células vegetales, por tanto el potencial de estas técnicas en la recuperación de especies amenazadas resulta trascendente (Rubluo *et al.*, 1993).

Cultivo de tejidos vegetales

El Cultivo de tejidos vegetales es una rama de la biotecnología que consisten en cultivar asépticamente *in vitro*: células, protoplastos, embriones, tejidos, órganos, etc., en condiciones controladas (medio nutritivo, luz, temperatura, pH, reguladores de crecimiento, etc.), para dirigir sus respuestas morfogénéticas y biosintéticas de las células, pudiendo lograr una gran variedad de objetivos, entre ellos: almacenamiento o conservación de germoplasma, nuevos métodos de hibridación y/o mejoramiento, investigación básica, propagación, erradicación o recuperación de plantas libres de patógenos, entre otros (George y Sherrington, 1984; Chávez, 1993). Esto se logra mediante la adición de reguladores de crecimiento, los cuales estimulan la proliferación de plantas completas gracias a la totipotencialidad inherente de las células vegetales (Dodds y Roberts, 1982).

El cultivo *in vitro* de células, tejidos y órganos de plantas es una de las ramas de la biotecnología de la que México y otros países del Tercer Mundo podrían obtener grandes beneficios a corto y a largo plazo (Robert y Loyola 1985).

La producción de sustancias naturales, importadas a un elevado costo, o de compuestos de importancia farmacéutica, obtenidos con baja eficiencia de plantas silvestres, son las líneas principales que podrían ser explotadas. Será muy importante, sin embargo, evitar la competencia con plantas que, en muchos casos, representan la única fuente de ingreso para sus cultivadores. Las plantas seleccionadas deben, por lo tanto ser aquellas que sean difíciles de cultivar en el campo, que den rendimientos bajos que hagan incosteable su cultivo o que no produzcan suficiente materia prima para las necesidades industriales (Robert y Loyola, 1985).

Actualmente, una herramienta de la ciencia que en un futuro cercano parecería evitar la sobreexplotación de los recursos naturales, es la Biotecnología Vegetal, a través del Cultivo de Tejidos Vegetales, esta técnica, que agrupa diversas metodologías como biotransformación, células inmovilizadas e inducción vía elicitores biológicos, podría incluso en algunos casos aumentar la producción de los metabolitos en un tiempo menor (Misawa, 1994).

Los sistemas de propagación *in vitro* permiten reproducir grandes cantidades de plantas a partir de pocos explantes; reducen la necesidad de alterar áreas naturales para obtener material vegetal que sirva de “planta madre”; disminuye la mortalidad de las plántulas en las primeras fases del desarrollo y permite obtener plantas libres de patógenos así como un ciclo de cultivo relativamente corto (Galván, 2005).

La micropropagación consta de 5 etapas o fases (George and Sherrington, 1984; Fay, 1993; Hartman *et al.*, 1997; Lynch, 1999).

- ◆ **Fase 0 o preparativa.** La calidad de las plantas donadoras desde el punto de vista sanitario, fisiológico, genético y fenotípico, es importante para que el desarrollo de la micropropagación sea eficiente y repetible. Esta fase permite seleccionar la planta madre o donante que se encuentre en las mejores condiciones para evitar contaminación en la siguiente etapa. Con la finalidad de reducir los riesgos de contaminación de los cultivos. Para maximizar la diversidad genética de las plantas producidas se puede optar por la utilización de semillas germinadas *in vitro*.

- ◆ **Fase 1 o establecimiento.** Consiste en la selección, desinfección del explante y con ello el establecimiento aséptico en el medio de cultivo. Generalmente los explantes se toman de plantas jóvenes o de zonas de crecimiento activas. Para la eliminación de organismos contaminantes, que pueden ser hongos, levaduras o bacterias, los explantes son desinfectados superficialmente. Los desinfectantes más utilizados son el hipoclorito de sodio (NaOCl), alcohol etílico (C₂H₅OH), hipoclorito de calcio (CaOCl₂) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Conjuntamente con los desinfectantes se pueden añadir de 1 a 2 gotas de solución de Tween 20 o 80 (agente surfactante) con la finalidad de reducir la tensión superficial y eliminar las burbujas de aire que se forman en la superficie y cavidades del explante para que los agentes desinfectantes puedan eliminar la mayor parte de los contaminantes.

- ◆ **Fase 2 o multiplicación.** Consiste en colocar los explantes en un medio de inducción, es decir con reguladores de crecimiento. El medio basal propuesto por Murashige y Skoog (1962) es el que se reporta con mayor frecuencia para la

propagación *in vitro* de muchas especies de plantas. En esta etapa es necesaria la presencia de auxinas y/o citocininas en el medio de cultivo. Con lo que se logra un nuevo balance en las concentraciones de citocininas y auxinas endógenas que dependerán del tipo de explante seleccionado y de la especie que se trabaje.

- ◆ **Fase 3 o Elongación y enraizamiento.** En esta etapa los brotes obtenidos de la fase dos, son transferidos a medio sin reguladores de crecimiento o a medio con auxinas para inducir la formación de raíces. El desarrollo de raíces es importante ya que les permitirán comenzar la absorción de nutrimentos al trasplantarse sobre un sustrato en condiciones *ex vitro*.
- ◆ **Fase 4 o aclimatización.** Aquí se da el cambio de la condición heterotrófica o mixotrófica de las plantas a una autotrófica y el paso gradual a condiciones *ex vitro*. Las plantas pueden parecer normales, sin embargo, a menudo presentan modificaciones en su estructura o metabolismo tales como tasas reducidas en la fotosíntesis, una cutícula delgada y una apertura estomática anormal, lo que las hace susceptibles a la deshidratación. Por esta razón es importante realizar el cambio gradual de un ambiente húmedo a otro más seco y con mayor intensidad luminosa.

Reguladores de Crecimiento Vegetal

Son por definición, compuestos orgánicos sintetizados por las plantas, que influyen sobre el crecimiento y desarrollo; actúan generalmente en algún lugar diferente a donde son producidas y se encuentran presentes y activas en muy pequeñas cantidades. Estos compuestos, son conocidos como hormonas vegetales. Aparte de estos productos naturales, se han desarrollado también otros de tipo sintético, que pueden tener una actividad semejante a la de los primeros. Al conjunto de estos productos sintéticos, junto con las hormonas, se denomina reguladores de crecimiento vegetal, y son los responsables, en primer lugar, de la distribución de los compuestos que la planta biosintetiza. También determinan el crecimiento relativo de todos los órganos de la planta (Pierik, 1990).

Existen varias clases de reguladores de crecimiento vegetal, sin embargo recientemente sólo cinco grupos son reconocidos, los cuales son: auxinas, citocininas, giberelinas, etileno y ácido abscísico (George *et al.*, 2008)

Para poder propagar una planta *in vitro* es necesario que ésta sea potencialmente capaz de regenerarse, lo cual está determinado por el genotipo, las condiciones ambientales y el estado de desarrollo de la planta. Las plantas jóvenes tienen mayor

capacidad de regeneración que las plantas adultas (Phillips *et al.*, 1994). Para obtener dicha respuesta se han aplicado reguladores de crecimiento vegetal, los más usados son las auxinas y las citocininas en el cultivo de tejidos vegetales. El crecimiento de las plantas *in vitro* y su morfogénesis son regulados por la interacción de los reguladores adicionados al medio de cultivo (exógenos) y los producidos de manera endógena (Razdan, 2003; Gaspar *et al.*, 1996; Evans *et al.*, 2003).

Auxinas

En una planta completa, se sintetizan en las yemas, en las hojas jóvenes, en los frutos así como en el embrión. Tienen múltiples papeles en el cultivo de tejidos, de acuerdo a su estructura química, su concentración y el tipo de explante. Las auxinas causan una producción de callo y raíces, así como el crecimiento de tallos. Generalmente promueven la elongación celular, la división celular en el cambium, mantienen la dominancia apical, estimulan la formación y el alargamiento de las raíces así como la síntesis de la pared celular. Junto con las citocininas estimulan la diferenciación del floema y el xilema. Adicionalmente una alta concentración de una auxina exógena puede inducir embriogénesis somática. La función esencial de las auxinas y las citocininas es para reprogramar las células somáticas que previamente han sido determinadas en el estadio de diferenciación. La reprogramación causa una desdiferenciación y después una rediferenciación, a un nuevo camino del desarrollo de la planta. Una célula que ha sido destinada para desarrollar una parte de la hoja, por ejemplo, pudiera convertirse en embriones somáticos. En condiciones *in vitro* altas concentraciones de auxinas exógenas pueden ser tóxicas, en gran parte porque éstas estimulan la producción de etileno que provoca la inhibición del crecimiento. Las auxinas más empleadas son el 2,4-D, AIA, AIB y ANA (Trigiano, y Gray, 2004; Gaspar *et al.*, 1996; Evans *et al.*, 2003).

En el cultivo de tejidos vegetales, la acción de las auxinas depende de la concentración y otras hormonas presentes en el medio, cambios en la concentración pueden cambiar el tipo de crecimiento, como la concentración para la estimulación de la raíz puede derivar a la inducción de callo. En este aspecto, cada sistema de cultivo de tejidos es único, y los efectos de diferentes concentraciones de auxinas y otras hormonas debe de ser probado individualmente y solamente hasta cierto punto los resultados pueden transferirse a otros cultivos (George *et al.*, 2008).

Citocininas

En una planta completa se sintetizan de manera endógena, en zonas meristemáticas de las raíces y en los embriones. Promueven la división y expansión celular, rompen la dominancia apical y contrarrestan el letargo, esta estimulación puede formar brotes

apicales del meristemo y subsecuentemente brotes adventicios. En condiciones *in vitro* la división celular promovida por las citocininas produce una diferenciación en el callo. Generalmente, altas concentraciones de citocininas bloquean el desarrollo de la raíz. Altas concentraciones de citocininas pueden causar brotes muy pequeños. Los cuales no se desarrollan completamente. Las utilizadas con mayor frecuencia son la BA, Kin, 2iP y Z (Trigiano y Gray, 2004; Gaspar *et al.*, 1996; Haberer y Keiber, 2002).

El crecimiento y la organogénesis *in vitro* están altamente ligadas con las sustancias endógenas de crecimiento y las sustancias análogas de crecimiento añadidas al medio. A menudo es necesario formar diferentes concentraciones de los reguladores de crecimiento para un cultivo *in vitro* de acuerdo a las especies o variedades de plantas, el origen del explante, el tipo de cultivo y otros constituyentes en el medio. Un balance entre los reguladores de crecimiento auxinas y citocininas, es con frecuencia el más utilizado para la formación de brotes adventicios y raíces. Las interacciones encontradas son frecuentemente complejas y más de una combinación de las dos sustancias probablemente producirá un mejor resultado (Pollard y Walker, 1990).

Vías de Regeneración *in vitro*

Crecimiento organizado (Organogénesis o morfogénesis)

El crecimiento organizado de un tejido u órgano, contribuye en la creación o mantenimiento de una estructura definida. Ocurre cuando los órganos de crecimiento de las plantas, meristemos apicales de brotes o raíces, primordios foliares, flores jóvenes o frutos, son transferidos a un cultivo y continúan su crecimiento preservando su estructura. El crecimiento es organizado y además ocurre cuando los órganos o tejidos son inducidos. Esto ocurre en el cultivo *in vitro*, directamente sobre el órgano, un tejido (explante) o durante el cultivo previo de tejidos indiferenciados. El proceso de la nueva formación del órgano es llamado organogénesis o morfogénesis (George *et al.*, 2008)

La organogénesis es la base fundamental de la multiplicación vegetativa o formación de nuevos meristemos y con ello de la producción mundial de plantas *in vitro* (Vasil, 1994). Involucra la diferenciación de brotes y raíces en diferentes tiempos para desarrollar una planta completa.

Los procesos organogénicos se pueden dividir en organogénesis directa y organogénesis indirecta (George y Sherrington, 1984; George, 1993).

Organogénesis directa

En la organogénesis directa, el surgimiento de los brotes adventicios se logra directamente del explante sin pasar por la fase de callo, se pueden utilizar como explantes embriones, hojas, bulbos, tallos, rizomas y tubérculos, siendo los promotores de la organogénesis directa altas concentraciones de citocininas y bajas o nulas de auxinas, sin embargo, las concentraciones endógenas de hormonas inducen también esta regeneración tanto *in vitro* como *ex vitro* (George, 1993).

Organogénesis indirecta

En la organogénesis indirecta, los brotes regenerados se desarrollan a partir de la formación de callo en el explante y son el resultado de la interacción del medio de cultivo, reguladores de crecimiento, del genotipo del explante así como su estado fisiológico y edad del mismo (George, 1993); los promotores de la formación de callo son altas concentraciones de auxinas y bajas o nulas de citocininas (George, 1993). Los brotes regenerados vía organogénesis indirecta, se logran después de que en el callo las células han sido redeterminadas en las nuevas divisiones celulares que les ocurren y así adquieren competencia (capacidad) organogenética, las células forman una estructura unipolar que puede ser un nuevo brote o bien una raíz (Sharp *et al.*, 1980).

Complicaciones Presentes Durante la Micropropagación

Procesos oxidativos en el cultivo in vitro y alternativas para contrarrestarlos

Un fenómeno que se presenta en el cultivo *in vitro*, es la oxidación de los tejidos. Cuando un tejido es seccionado, los bordes o sitios de corte se tornan café-negro y se pueden oxidar en pocos minutos u horas, esto es ocasionado por la presencia de fenoles y quinonas, varios de estos compuestos son fitotóxicos y ocasionan la muerte del tejido celular si esta los libera, sin embargo, esto en condiciones naturales evita que puedan penetrar patógenos por la herida y que sean un factor que provoque la muerte de las células del explante. La presencia de estos compuestos, está condicionada a una serie de factores como pueden ser: la edad fisiológica del explante (tejidos jóvenes contienen menores cantidades de compuestos fenólicos), el tamaño del área dañada por el corte y por el contenido natural de ellas (Collin y Edwards, 1998).

Cuando un tejido es seccionado para su siembra *in vitro* se facilita la reacción entre las enzimas oxidativas como la polifenoloxidasas, las peroxidasas, las tirosinas y sus sustratos, por ejemplo la tirosina o hidroxifenoles como el ácido clorogénico que se encuentra en diferentes compartimientos de la célula, la cual al ser seccionada libera

su contenido, poniendo en contacto estas sustancias y provocando la oxidación (George y Sherrington, 1984). La toxicidad de los fenoles se debe probablemente a que se enlazan con las proteínas a las cuales en caso extremo pueden llegar a polimerizar y oxidar para formar compuestos melánicos (George y Sherrington, 1984). Generalmente la oxidación trae como consecuencia el crecimiento reducido y la muerte eventual de los tejidos cultivados (Bonga y Von Anderkas, 1992).

Existen algunos métodos para reducir el efecto de compuestos fenólicos producidos por los cortes en los explantes, entre los cuales se encuentran:

a) Inmersión de los explantes en una solución con antioxidantes

Se pueden realizar tratamientos alternativos para la eliminación de compuestos fenólicos al medio, uno de estos es el lavado de los tejidos en una corriente de agua de 2 a 3 horas, o incubando el tejido en agua estéril toda la noche (Collin y Edwards, 1998).

Los antioxidantes comúnmente utilizados son: el ácido cítrico, ácido ascórbico, cisteína y norleucina que pueden ser utilizados en enjuagues, lavando los explantes antes de ser sembrados en el medio de cultivo o bien adicionados al mismo (Bhojwani y Razdan, 1983).

El ácido ascórbico es una lactona de azúcar-ácido. Es un potente reductor que cede con facilidad átomos de hidrógeno para transformarse en ácido deshidroascórbico y es un compuesto sensible a la temperatura; mientras que el ácido cítrico es un ácido carboxílico ampliamente distribuido en tejidos animales y vegetales cuyos grupos polares ácidos e hidroxilos le permiten tener propiedades antioxidantes, además de ser un agente que atrapa trazas de metales. La cisteína es un aminoácido que contiene un grupo sulfhidrilo, el cual es muy reactivo y extremadamente susceptible a la oxidación a disulfuro por el oxígeno atmosférico en presencia de sales de hierro u otro oxidante suave (Uribe, 1998).

b) Adición de compuestos antioxidantes al medio de cultivo

Carbón activado o polivinil-pirrolidona (PVP), puede ser adicionado al medio, adsorbiendo los compuestos fenólicos y reduciendo el ennegrecimiento de los tejidos, aunque tiene una desventaja, también puede adsorber algunos reguladores de crecimiento (Collin y Edwards, 1998).

Una práctica muy común es la adsorción con carbón activado, el cual captura las sustancias tóxicas que son liberadas en el medio por los explantes, sin embargo

los reguladores de crecimiento pueden ser también adsorbidos y en consecuencia el medio con carbón activado debe ser cambiado con frecuencia (George y Sherrington, 1984).

El PVP es una poliamida que reacciona con los fenoles, restableciendo de esta manera la actividad enzimática del tejido. Los fenoles son adsorbidos por el PVP a través de enlaces de hidrógeno, previniendo su oxidación (George y Sherrington, 1984).

c) Subcultivos frecuentes

Una de las acciones más utilizadas para contrarrestar la oxidación de los tejidos son los subcultivos frecuentes. Las transferencias de medio de cultivo a intervalos frecuentes de tiempo evitan la acumulación de las sustancias tóxicas, además de que las partes necrosadas del tejido pueden removerse antes de que afecten al tejido sano (Bonga y Von Aderkas, 1992).

d) Incubación de los explantes en sus etapas iniciales con luz reducida

La exposición de los cultivos a la luz incrementa la actividad de las enzimas oxidativas y por tanto la biosíntesis de los compuestos fenólicos responsables de la muerte de los tejidos. Para reducir o prevenir la oxidación, los cultivos se pueden mantener en oscuridad por 14 días o más antes de ser transferidos a baja intensidad luminosa (George y Sherrington, 1984).

Hiperhidratación

Las condiciones dentro de un recipiente para la micropropagación de plantas son extremas, desde que las plantas son encerradas en una atmósfera con un medio que, como resultado de la concentración de sacarosa y sales inorgánicas, tiene una alta presión osmótica. La consecuencia de este encierro es un alto nivel de CO₂ siendo mucho más alto que en el de la atmósfera (14%) y hay altas concentraciones de etileno (2-3 ppm) y vapor de agua. Los altos niveles de etileno y concentraciones de citocininas pueden incrementar las anomalías morfológicas, por ejemplo el tallo se puede volver más engrosado, así como alterar la orientación de los tallos, raíces y hojas con respecto a la gravedad, pueden presentar problemas de hiperhidratación. Las altas concentraciones de humedad disminuyen la formación de cera en la superficie de las hojas y la alta presión osmótica del medio deja un desarrollo ensanchado, con lo cual el tejido aparecerá translúcido. Esta deformación y espesor de las hojas y tallos se le conoce como hiperhidratación. En esta forma las plántulas no pueden ser transferidas al suelo fácilmente (Collin y Edwards, 1998).

El método de control o disminución de la hiperhidratación, es reducir la temperatura de la base del contenedor para aumentar la condensación del vapor de agua, de este modo se crea un gradiente de retención de agua en el agar. Otros métodos es reducir o remover los compuestos de amonio en el medio (Collin y Edwards, 1998).

Cultivo de tejidos en Cactáceas

Debido a los trabajos publicados se puede mencionar que las cactáceas ofrecen amplias perspectivas para su cultivo *in vitro*, además de que los resultados obtenidos hasta ahora, permiten vislumbrar aplicaciones de impacto para la propagación masiva de estas plantas y su rescate del riesgo de extinción (Rubluo, 1990).

La propagación exitosa de especies de cactáceas en México, demuestra el valor de la propagación artificial como método *ex situ* para la conservación de especies en peligro (Martínez y Rubluo, 1989; Malda *et al.*, 1999; Martínez y Martínez, 2002).

Las técnicas de cultivo de tejidos aplicadas a la reproducción de cactáceas son relativamente recientes, Kolar y Bartek, (1976) reportaron la primera regeneración de brotes de una cactácea, los cuales fueron originados a partir de callo de *Mammillaria woodsii*. Mauseth (1979), logró generar brotes vía organogénesis directa a partir de aréolas.

Vyskot y Jara (1984), afirman que para el establecimiento del cultivo *in vitro* en cactáceas es recomendable usar fragmentos de plantas jóvenes de 2 o 3 años de edad que no hayan formado un tejido muy compacto, ya que esto puede influir negativamente en su capacidad regenerativa. Fay y Gratton (1992), sugieren que en cactáceas con aréolas muy espaciadas, los explantes deben de ser tomados con varias aréolas y 3 mm de tejido circundante y en *Mammillaria* y otros géneros se deben de remover con tanto tejido circundante posible, haciendo un corte transversal, concluyendo que el tamaño de los explantes en cultivos *in vitro* es muy variado y depende de la estructura de la cactácea y proponiendo uno de mayor tamaño como sea posible para que al desinfectar la superficie, el daño del tejido sea mínimo.

El medio de cultivo más utilizado para inducir la regeneración de las cactáceas es el desarrollado por Murashige y Skoog (1962), conocido como MS, del cual se ha comprobado que tiene el potencial para soportar todas las fases de la organogénesis en algunas cactáceas (Johnson y Emino, 1979; Mauseth, 1979).

A parte del medio de cultivo los reguladores de crecimiento juegan un papel importante en la propagación *in vitro* de las cactáceas.

Reguladores de crecimiento empleados en el cultivo in vitro de cactáceas

La respuesta de los tejidos está determinada en gran medida por el tipo y concentración de los reguladores de crecimiento contenidos en el medio de cultivo. En cactáceas las citocininas más utilizadas para romper la latencia de las yemas axilares (aréolas) son el BA, además de la Z, Kin y el 2iP (Fay y Gratton, 1992). Se ha demostrado que las auxinas pueden ser necesarias en muy bajas concentraciones (0.1-0.5 mg/l) o bien la proliferación de brotes puede proceder en su ausencia (Clayton *et al.*, 1990). Las auxinas más utilizadas son el ANA y el AIA, con el fin de inducir la formación de raíces en brotes y plántulas regeneradas *in vitro*; el 2,4-D se ha empleado para la inducción de callo y para la obtención de embriones somáticos (Fay y Gratton, 1992).

La proliferación de brotes *in vitro* de cactáceas puede lograrse a través del rompimiento de la dominancia apical, y de esta forma activar las yemas axilares con la adición de citocininas en el medio de cultivo, o bien de la combinación de citocininas y auxinas, estas últimas en concentraciones bajas (Fay y Gratton, 1992).

Diversas investigaciones *in vitro* de la Familia Cactaceae, han permitido la regeneración de múltiples especies, mediante el empleo de distintos tipos de explantes (embriones, tubérculos, aréolas) y de reguladores de crecimiento (auxinas y citocininas) (**Tabla 11**).

Tabla 11. Listado de algunas especies de la Familia Cactaceae regeneradas *in vitro*.

Especie	Explante	Condiciones <i>in vitro</i>	Respuesta	Enraizamiento de brotes	Referencia
21 especies diferentes de <i>mammillaria</i>	Semillas	MS + 2,4-D + BA (N.E.)	Br y Ca	MS	Damiano <i>et al.</i> , 1986
<i>Ariocarpus kotschoubeyanus</i>	Tubérculos de la planta adulta	MS + BA (0-5 mg/l)+ ANA (0-1 mg/l); BA (1 - 3 mg/l)/ANA (1mg/l); BA (2 mg/l)/ANA (0.5 y 1mg/l); BA (3mg/l)/ANA (0.1mg/l); Kin(5mg/l)/2,4-D (0.1mg/l)	O.I. y E.S.	-	Moebius-Goldammer, <i>et al.</i> 1999
<i>Cephalocercus senilis</i>	Plántulas germinadas <i>in vitro</i>	MS + 2,4-D (2mg/L)/Kin(4mg/l)	Ca	-	Nava-Esparza y Yañez, 1984
<i>Coryphantha macromeris</i>	Plántulas germinadas <i>in vitro</i>	MS + 2,4-D(0.1mg/l)/BA(0.1mg/l)	Br	-	Smith <i>et al.</i> , 1991
<i>M. albinata</i>	brotes laterales	No especificado	Mp	-	Fay y Gratton, 1992
<i>M. bocasana</i> <i>M. carmenae</i> <i>Echinocactus grusonii</i>	Aréolas	MS + Kin(5.0 mg/l); BA(5.0 y 10 mg/l) Kin(1.0 y 10 mg/l); BA(5.0 y 10 mg/l) BA (0.5 y 5.0 mg/l)	Br y Ca	-	Anicua, 2000
<i>M. elongata</i>	Tubérculos con espinas triadas	MS + 2iP (10mg/l)/AIA(1mg/l)	Br	MS	Johnson y Emino, 1979
<i>M. glasii</i>	Brotes axilares	MS+ BA (1mg/l)	Br	-	Starling y Dodds, 1983
<i>M. gracilis</i>	Brotes laterales	MS + BA (2mg/l)	Br	-	Fay y Gratton,1992
<i>M. huitzilopochtli</i>	Secciones de tallo	MS + BA (1mg/l)	Br y Ca	-	Rubluo <i>et al.</i> , 1993
<i>M. lasiacantha</i>	Brotes laterales	N.E.	Mp	-	Fay y Gratton, 1992
<i>M. mammillaris</i>	Semillas	N.E.	Mp	-	Fay y Gratton, 1992
<i>M. nana</i>	Brotes laterales	N.E.	Mp	-	Fay y Gratton, 1992
<i>M. parkinsonii</i>	Semillas	N.E.	Mp	-	Fay y Gratton, 1992

<i>M. prolifera</i>	Semillas, brotes y órganos florales	MS + K (1-2 mg/l)/2,4-D (10-20 mg/l)	Ca	-	Minocha y Mehra, 1974
<i>M. prolifera</i>	Secciones de tallo de 2-3 años	MS + BA/ANA (0.5-1mg/l)	Br	MS + AIA (1mg/l)	Vyskot y Jara, 1984
<i>M. san-angelensis</i>	Secciones de tallo	MS + BA (0.1mg/l); MS+ BA (0.1 mg/l + ANA (0.01mg/l)	Br	-	Martínez-Vázquez y Rubluo, 1989
<i>M. san-angelensis</i>	secciones de tallo	MS + BA (0.1mg/l)	Br y Ca	MS	Rubluo <i>et al.</i> , 1993
<i>M. solisioides</i>	Semillas	N.E.	Mp	-	Fay y Gratton, 1992
<i>M. spaeroca</i>					
<i>M. gracilis</i>	Tubérculos con espinas triadas	MS + 2iP (10mg/l)/AIA (1mg/l)	Ca	-	Johnson y Emino, 1979
<i>M. eichlamii</i>					
<i>M. spp.</i>					
<i>M. spp</i>	brotes laterales	MS + BA (2mg/l)	Br y Ca	-	Fay y Gratton, 1992
<i>M. theresae</i>	brotes laterales	N.E.	Mp	-	Fay y Gratton, 1992
<i>M. vipcrina</i>	brotes laterales	N.E.	Mp	-	Fay y Gratton, 1992
<i>M. carmenae</i>	Secciones de tallo de 2-3 años	MS + ANA (1mg/l)/BA(2mg/l)	Br	MS + AIA (1mg/l)	Vyskot y Jara 1984
<i>Obregonia denegrii</i>					
<i>Aricarpus trigonus</i>	Fragmentos de costilla	MS + AIA(5mg/l)/Kin(0.5mg/l)	Br	-	Martínez-Vázquez y Rubluo, 1989
<i>Astrophytum asterias</i>					
<i>Turbincarpus pseudopectinatus</i>	Ápices y base de tallos	MS + ANA(0.5mg/l)/BA(2.0mg/l); BA(3.0mg/l); Kin(2.0mg/l)	Br	-	González-Caballero, 2008
<i>Pelecypora aselliformis</i>	Ápices	MS + BA(0.198mg/l)	Br	-	Pérez y Dávila-Figueroa, 2001

MS: Medio Murashige y Skoog, **ANA:** ácido naftalenacético, **BA:** Benciladenina, **Kin:** Kinetina, **AIA:** Ácido indol-3-acético, **2,4-D:** Ácido 2,4-Dicloro fenoxiacético, **2iP:** N-6 dimetil alil aminopurina, **Br:** Brote, **Ca:** Callo, **O.I:** Organogénesis Indirecta, **E.S:** Embriones Somáticos, **Rz:** Raíz, **P:** Plántula, **Mp:** Micropropagación, **N.E:** No especificado.

Planteamiento y Justificación del Problema

Aporocactus flagelliformis (L.) Lem. (CACTACEAE) es una especie endémica de México distribuida en los bosques tropicales caducifolios y bosques mesófilos de montaña en los estados de: Hidalgo, Oaxaca, Guanajuato, México, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí y Veracruz (Guzmán, 2003). Actualmente es colectada ilegalmente para su venta como planta ornamental y aunado a la destrucción de su hábitat, ha provocado que la NOM-059-ECOL-2001 la coloque bajo el estatus de especie sujeta a protección especial (Pr) mientras que la CITES la ha catalogado en el Apéndice II, no se tiene conocimiento sobre estudios publicados acerca de su propagación por métodos convencionales (esquejes, semillas) por lo que la propagación *in vitro* propone ser una alternativa para su conservación y aprovechamiento como lo ha sido con *Mammillaria san-angelensis* (Martínez-Vázquez y Rubluo, 1989) y *Turbinicarpus laui* (Mata-Rosas et al., 2001). y *T. pseudopectinatus* (González-Caballero, 2008), cactáceas endémicas de México en peligro de extinción.

Objetivos

General

- ◆ Establecer las condiciones para la micropropagación de *Aporocactus flagelliformis* a partir de secciones de tallo, permitiendo sentar las bases para su conservación *ex situ* y aprovechamiento.

Particulares

- ◆ Establecer un procedimiento de desinfección para el establecimiento *in vitro* de explantes de tallo de *A. flagelliformis*.
- ◆ Controlar la oxidación de los explantes de tallo en cultivo, mediante el empleo de antioxidantes.
- ◆ Explorar las respuestas morfogénicas de secciones de tallo en presencia de diferentes concentraciones y combinaciones de auxinas/citocininas.
- ◆ Establecer las condiciones de enraizamiento de los regenerantes de *A. flagelliformis*.
- ◆ Establecer condiciones para la aclimatización de las plántulas regeneradas de *A. flagelliformis*.
- ◆ Plantear una propuesta para la conservación y aprovechamiento de *A. flagelliformis*.

Materiales y Métodos

Material biológico

Se utilizaron cortes transversales de tallos jóvenes, aproximadamente de 15 a 20 cm de longitud de una planta adulta de *A. flagelliformis* (**Fig. 6**), donada por el Biól. Gabriel Olalde Parra del Jardín Botánico del Instituto de Biología de la UNAM.



Fig. 6. Planta madre de *A. flagelliformis*, Ta: Algunos tallos seleccionados.

Desinfección superficial de tallos

Los tallos se enjuagaron en una solución en agitación constante de detergente comercial durante 5 minutos, seguido de una solución de etanol 70% v/v por 30 segundos; sin enjuagar se sometieron a Captan® 3 g/l por 3 horas; sin enjuagar se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio (blanqueador doméstico con 6% de cloro activo) 30% (v/v) todo en agitación constante durante 20 min. Bajo condiciones asépticas en campana de flujo laminar.

Al término de la desinfección, los explantes se enjuagaron 3 veces en una solución de agua destilada adicionada con ácido ascórbico (250mg/l) y ácido cítrico (250mg/l) la cual fue esterilizada en autoclave a 120°C con una presión de 1.5kg/cm² durante 17 minutos.

Los tallos fueron disectados transversalmente en secciones de 1 a 2 cm de longitud, los explantes utilizados fueron los de la parte media del tallo, se descartó la sección más apical y más basal debido a que fueron zonas blanqueadas por el cloro (**Fig. 7**).

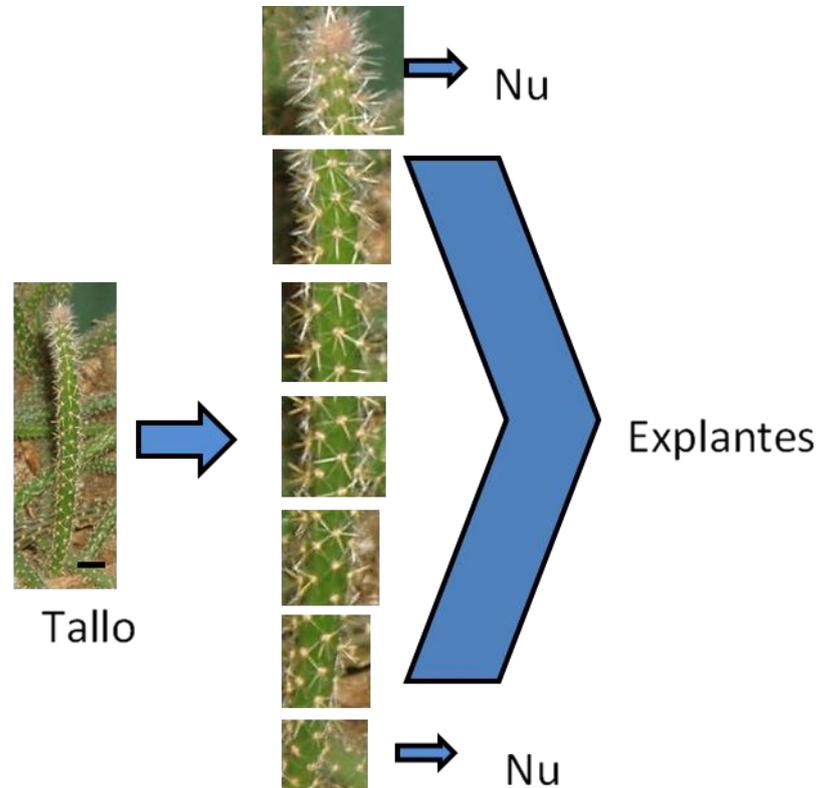


Fig. 7. Tallo disectado, Nu: Explante no utilizado (Barra=1 cm)

Siembra de explantes y preparación del medio de cultivo

Se sembraron 2 explantes por cada frasco Gerber® con 25 ml de Medio MS 50%, sacarosa 30 g/l, PVP 1g/l y adicionado con diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento ANA y BA (**Tabla 12**), el pH fue ajustado a 5.7, con soluciones de HCl y/o NaOH 0.1 N, se adiciono Phytigel® 8.5 g/l. El medio se esterilizó en autoclave a 120°C a una presión de 1.5kg/cm² durante 17 minutos. Se realizaron 10 repeticiones de cada combinación.

Tabla 12. Reguladores de crecimiento empleados para el cultivo *in vitro* de secciones de tallo de *Aporocactus flagelliformis*.

BA mg/l \ ANA mg/l	0	1.0	2.0	3.0
0	1	2	3	4
0.1	5	6	7	8
0.2	9	10	11	12
0.5	13	14	15	16

Condiciones de incubación

Todos los cultivos, fueron colocados en una cámara de incubación bajo condiciones de oscuridad, con una temperatura de $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$, por 3 semanas. Después de dicho tiempo, se pasaron a un fotoperiodo de 16 h luz. Los explantes permanecieron en un periodo de inducción durante 2 meses, al término de cada 2 meses los explantes fueron subcultivados de un medio de cultivo sin reguladores de crecimiento: MS 50%, sacarosa 30g/l adicionado con PVP 1g/l.

Individualización de brotes

Transcurrido entre 14 y 16 meses, para todos los tratamientos, los brotes que tuvieron de 1 a 3 cm de longitud, con al menos una raíz adventicia, fueron individualizados y subcultivados cada 2 meses en medio MS 50%, sacarosa 30g/l adicionado con PVP 1g/l.

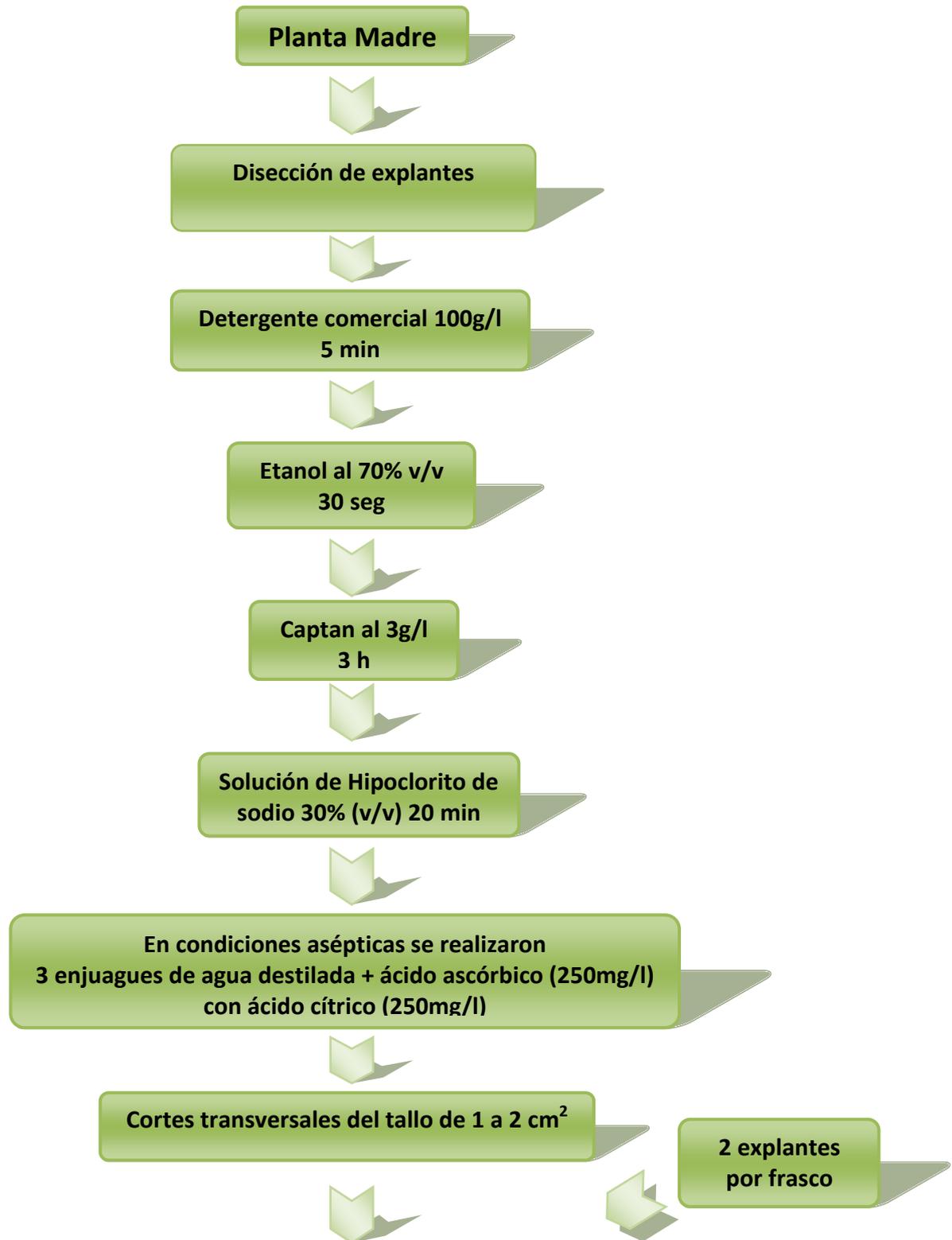
Aclimatización

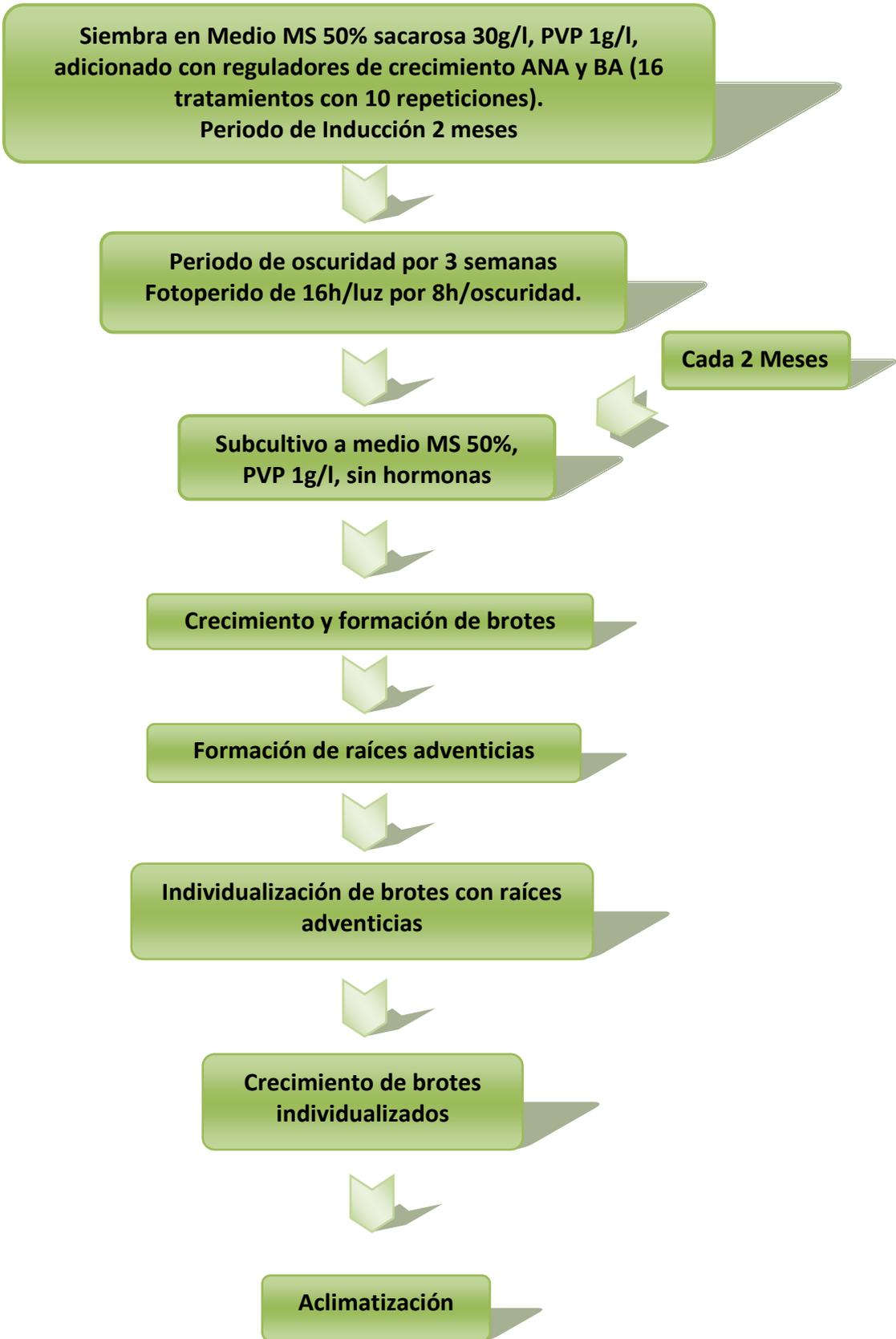
Los brotes individualizados que presentaron entre 2 a 5 cm de longitud con un diámetro de 0.5 a 1 cm, con raíz adventicia, fueron llevados a condiciones *ex vitro*, por lo que se lavaron sus raíces con agua corriente para quitar los residuos de medio cuidando de no dañarlas; los brotes se colocaron en charolas translúcidas con una mezcla esterilizada de tezontle, tepojal y tierra negra en proporción de 3:3:2, permaneciendo cerradas durante 3 semanas y posteriormente se abrieron gradualmente los siguientes días.

Propuesta de conservación y aprovechamiento

Después de 6 a 8 meses de aclimatización, se donaron en total 100 ejemplares de *Aporocactus flagelliformis*, a 4 Jardines botánicos de la Ciudad de México, (JB-UNAM, JB-CICEANA, JB-Bosque de Chapultepec, FES-Iztacala), para su conservación y posterior propagación y aprovechamiento.

Protocolo realizado durante el trabajo





Resultados y Discusión

Desinfección superficial y oxidación inicial de los tallos

El paso inicial para un proceso de regeneración *in vitro* es obtener un cultivo aséptico del material vegetal (George y Sherrington, 1984), por lo que de acuerdo con Ramírez-Malagón *et al.*, (2007), la combinación de diferentes tratamientos para la desinfección como el uso de fungicidas, desinfectantes comerciales e hipoclorito de sodio proveen un confiable sistema de desinfección superficial del explante.

Sin embargo aunque son confiables estos sistemas no siempre se logra obtener el 100% de asepsia en los cultivos, ya sea por la manipulación de los tejidos, la concentración y/o el tiempo de desinfección inadecuados, la morfología de la planta, esta última es de gran importancia en las cactáceas, ya que en las aréolas, donde se desarrollan las espinas, presentan pequeñas vellosidades o lana, llamadas tricomas, por las cuales el desinfectante podría no llegar a cubrir toda la superficie del explante. Tal es el caso en *Aporocactus flagelliformis* que presenta aréolas con tricomas blancos, espinas radicales y centrales a lo largo de todo el tallo.

Por lo que durante los 60 días de iniciado los cultivos (**Gráfica 1**) se presentó una contaminación del 13% (37 explantes), con la incorporación de Captan® 3g/l en el proceso de desinfección. En el mismo periodo, se presentó la oxidación del 11% de los explantes (39), con la inmersión de los explantes en una solución de agua destilada con ácido ascórbico (250mg/l) y ácido cítrico (250mg/l) y con la adición de PVP 1g/l junto con un periodo de oscuridad por 3 semanas.

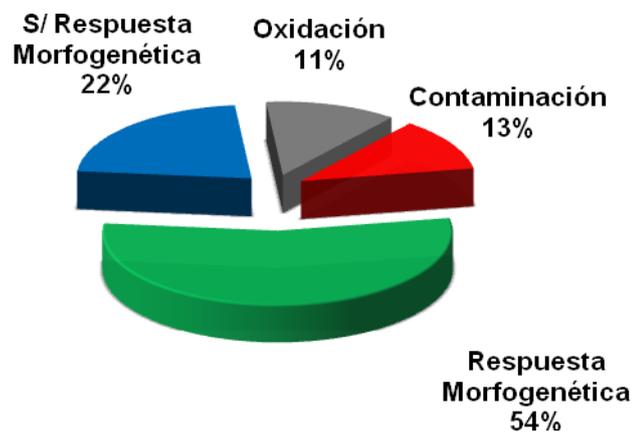
Ramírez-Malagón *et al.*, (2007), reportaron que el 80% de los explantes utilizados de diferentes especies del género *Mammillaria*, fallaron en el establecimiento *in vitro* por oxidación, contaminación y/o necrosis; teniendo en promedio solo un 20% de todos los explantes, mientras que Pérez-Molphe *et al.*, (1998), citan problemas con la desinfección superficial de cactáceas, teniendo una contaminación del 30 al 60% de los cultivos de tallo, así como problemas de oxidación y necrosis en especies como *Astrophytum myriostigma*, *Cephalocereus senilis*, *Coryphantha clavata*, *Coryphantha durangensis*, *Coryphantha radians*, *Echinocactus platyacanthus*, *Ferocactus hamatacanthus*, *Ferocactus pilosus* y *Nyctocereus serpentinus*, por cortes transversales y longitudinales, logrando controlarlo con la adición de 2g/l de PVP al medio.

El inicio exitoso de cultivos *in vitro*, ha sido obstaculizado por la exudación de materiales tóxicos que provienen de los cortes superficiales de los explantes de un considerable número de plantas, sin embargo, este problema ha sido exitosamente

controlado en varias especies de plantas con la adición al medio de cultivo de carbón activado y PVP (Sarasan *et al.*, 2006).

La oxidación también se puede prevenir y/o controlar, sumergiendo a los explantes en soluciones con agentes reductores o antioxidantes (como el ácido cítrico y ascórbico), Saucedo-Gutiérrez (2006), reportó que para *Cephalocereus apicicephalium*, el control de la oxidación se llevó a cabo sumergiendo los explantes en una solución de ácido cítrico (100 mg/l) y ácido ascórbico (150mg/l) durante 30 minutos.

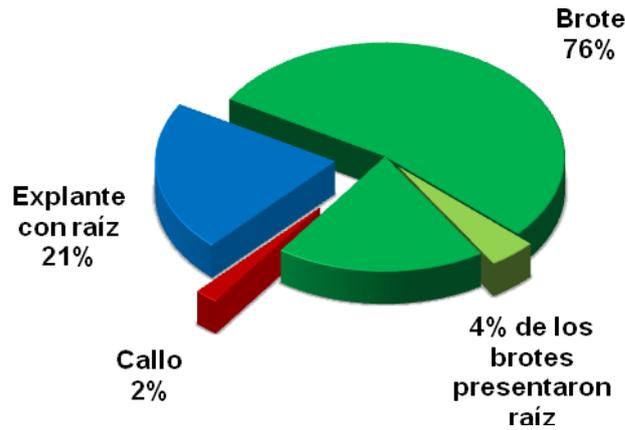
La utilización de estos agentes reductores (antioxidantes), ha sido reportada como un método efectivo para disminuir el ennegrecimiento de los tejidos o explantes en los cultivos *in vitro*, así como a menudo se asume que previene la oxidación de los fenoles (George y Sherrington, 1984).



Gráfica 1. Cultivo *in vitro* de secciones de *A. flagelliformis*. Resultado al término de 60 días de inducción.

Respuestas al cultivo *in vitro*

Considerando que todos los explantes fueron en promedio del mismo diámetro y de la misma edad, los cuales se mantuvieron en las mismas condiciones de cultivo al cabo de 60 días de iniciado el cultivo, el 22% no presentó ninguna respuesta morfogénica al cultivo *in vitro*, mientras que el 54% si lo hicieron, de éstos, 2% (4 explantes) formaron callo, 22% (40 explantes) raíces, 76% formaron brotes (135 explantes), de los cuales 4% (8 brotes) generó al menos una raíz adventicia (**Gráfica 2**).



Gráfica 2. Respuestas al cultivo *in vitro* de los explantes de *A. flagelliformis*. Resultado al término de 60 días de inducción.

Callo

La formación de callo fue muy escasa, presentándose sólo en el 2% de los explantes, transcurridos 60 días de iniciado el cultivo, el callo se logró establecer únicamente en los explantes suplementados con cantidades de ANA ≤ 0.5 mg/l con BA ≤ 2.0 mg/l, sin lograrse una proliferación del mismo, surgió de la zona del corte apical del explante, este fue de consistencia compacta de color verde claro y poco friable, al cabo de cinco meses de su formación, tuvo poco crecimiento tornándose más compacto, menos friable y de consistencia dura, con una coloración café oscuro (**figura 8**).

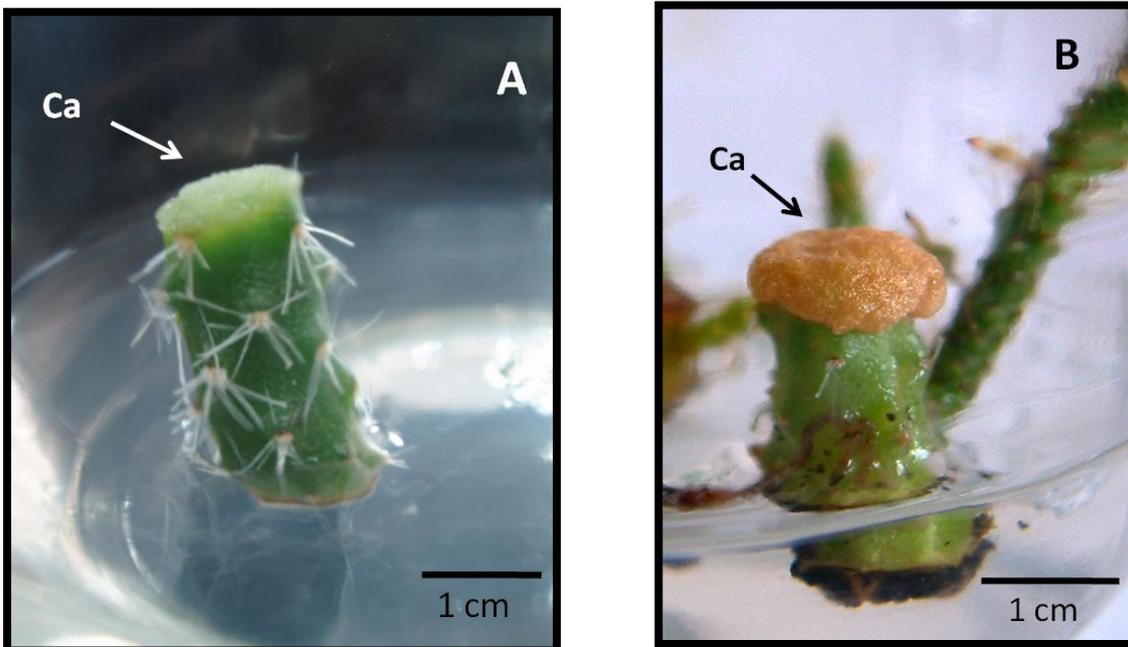


Figura 8. Formación de callo. **A.** Callo en la zona del corte apical del explante (60 días). **B.** Callo oxidado (ANA/BA 0.1/0 mg/l) (150 días). Ca, callo.

El poco callo formado no fue organogénico, el cual, se observó sobre la superficie apical del corte de los explantes, mientras que en la superficie basal del corte de los explantes, presentó una ligera oxidación. De acuerdo con Pérez-Molphe, *et al.*, (1998), la formación de callo se dio en las zonas de corte de los explantes de tallo de las 21 especies de cactáceas, de igual forma González-Caballero (2008), reportó la formación de callo dentro del primer mes de cultivo, iniciando principalmente en las zonas de corte de los explantes de *Turbinicarpus pseudopectinatus*.

Aunque la formación de callo organogénico ha sido reportada en varias especies de la Familia Cactaceae, *A. flagelliformis* no presentó alguna respuesta similar, de igual forma Mohamed-Yasseen (2002), reportó para *Hylocereus undatus*, sólo la formación de brotes axilares en la cuarta semana de cultivo sin la presencia de callo, a partir de cortes de tallo transversales, con una concentración de 0.1mg/l de ANA. Esta respuesta morfogénica en *Hylocereus undatus* y *A. flagelliformis*, puede deberse a que el explante es inducido a formar brotes (organogénesis) por la concentración de BA y citocininas endógenas en los explantes y desarrollar raíces adventicias sin presentar la formación de callo por la baja concentración de ANA y auxinas endógenas presentes en el medio de cultivo, de esta forma, para la proliferación de callo en los explantes de *A. flagelliformis* se tendrían que utilizar concentraciones más altas de ANA y/o auxinas con mayor potencial morfogénico (más fuertes) como 2,4-D.

Hylocereus undatus al igual que *Aporocactus flagelliformis*, pertenecen a la Tribu Hylocereeae, la cual agrupa a cactáceas de habito epífito, trepador y rupícola, estas presentan tallos cilíndricos o aplanados, los cuales se pueden propagar vegetativamente por esquejes de manera sencilla, debido al desarrollo de raíces adventicias de manera espontánea en todo el tallo.

Organogénesis Directa

Formación de Raíces a partir de los Explantes

Después de 60 días en el medio de inducción, en los tratamientos con concentraciones de ANA ≥ 0.1 mg/l con BA ≤ 3.0 mg/l (**Tabla 13**), se pudo observar la formación de raíces adventicias, las cuales se generaron tanto en zonas basales como a lo largo de los explantes, estando o no, en contacto con el medio. El tratamiento que presentó la mayor respuesta 75%, al formar raíces adventicias fue el suplementado con ANA/BA 0.2/0 mg/l, con 2 raíces adventicias por explante y un crecimiento promedio de 2.5 cm de longitud, mientras que el tratamiento ANA/BA 0.5/0 mg/l, permitió que 9 explantes (45%) formaran raíces adventicias, con 2.4 raíces por explante, y 2.5 cm de longitud de raíz, por lo que la formación de raíces adventicias está ligada con la concentración de ANA en el medio de cultivo (**figura 9-A**). De manera similar Zamora-Maldonado (2007)

reportó que para *Thelocactus bicolor*, el mayor número de raíces por explante, se formó con el tratamiento ANA/BA 0.5/0 mg/l, obteniendo 1.6 raíces, a los 20 días de iniciado el cultivo.

Tabla 13. Porcentaje de formación de raíces a partir de los explantes. Resultados a 60 días de iniciados los cultivos.

T	Concentración ¹		Raíz a partir del Explante	Raíces por explante \bar{x}	Crecimiento (cm) \bar{x}
	ANA	BA			
1	0	0	0/20 (0%)	0	0
2	0	1	0/20 (0%)	0	0
3	0	2	0/20 (0%)	0	0
4	0	3	0/20 (0%)	0	0
5	0.1	0	2/20 (10%)	2	2
6	0.1	1	1/20 (5%)	1	2
7	0.1	2	0/20 (0%)	0	0
8	0.1	3	4/20 (20%)	1.5	1.5
9	0.2	0	15/20 (75%)	2	2.5
10	0.2	1	0/20 (0%)	0	0
11	0.2	2	3/20 (15%)	2	1.5
12	0.2	3	3/20 (15%)	1.3	2
13	0.5	0	9/20 (45%)	2.4	2.5
14	0.5	1	2/20 (10%)	1	1
15	0.5	2	0/20 (0%)	0	0
16	0.5	3	0/20 (0%)	0	0

¹ Reguladores de crecimiento en mg/l

Esta respuesta morfogénica puede indicar que los explantes se comportan como individuos, regenerando la parte faltante del explante, para la absorción de nutrientes por medio de la raíz, de esta manera hace que cada explante se convierta en un esqueje o microsqueje. Esta respuesta es similar a la obtenida en *Turbinicarpus pseudopectinatus*, en el cultivo de ápices, donde González-Caballero (2008), observó la formación de brotes así como la generación de la parte faltante del explante, la raíz, inclusive sin la adición de auxinas como ANA al medio de cultivo después de 1 mes de iniciados los cultivos.

Los explantes que no formaron raíces adventicias, presentaron indicios de oxidación en la parte basal, la cual se inició en la zona del corte hasta llegar a cubrir la mitad o inclusive el explante completo, lo cual ocasionó en algunos casos la pérdida del mismo, mientras que los que si formaron raíces adventicias, en general no presentaron esta oxidación, lo cual permitió que se desarrollaran de manera más adecuada a lo largo de todo el experimento, esto pudo deberse a que la herida del corte se mantuvo activa y

no logró cicatrizar, lo que ocasiono la oxidación del explante, mientras que cuando se cerró la herida completamente el explante pudo formar raíces adventicias.

Transcurridos 90 días iniciados los cultivos, los explantes que presentaron raíces también tuvieron la formación de brotes vía organogénesis directa a partir de las aréolas del explante, los cuales tuvieron en promedio de 1 a 2 cm de longitud (**figura 9-B**).

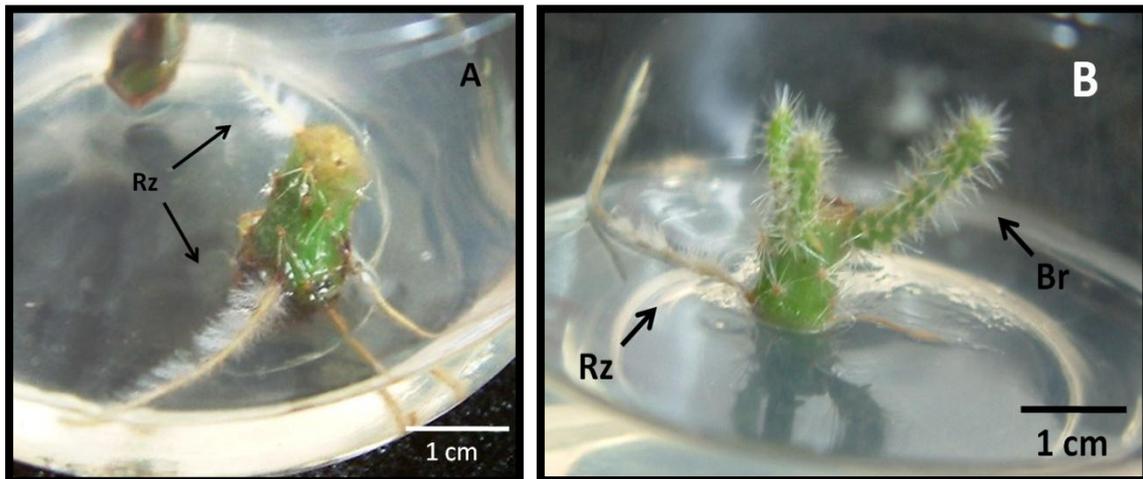


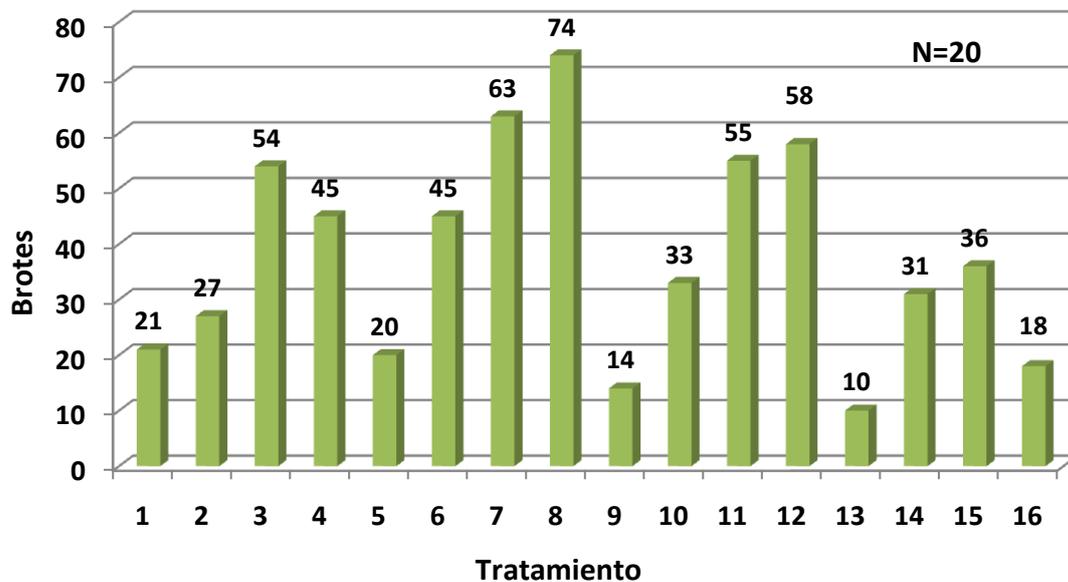
Figura 9. Formación de raíces adventicias (ANA/BA 0.5/0 mg/l). **A)** a partir del explante (60 días). **B)** Crecimiento de raíces adventicias y formación de brotes (vía organogénesis directa) a los 90 días. Rz, raíz adventicia; Br, brote.

Formación de Brotes (Periodo de Inducción)

La regeneración de brotes se presentó vía organogénesis directa, en todos los tratamientos, incluyendo el control, en las zonas meristemáticas (aréolas) de los explantes. A partir del día 21 fue visible la activación de las aréolas, tornándose éstas de color rojizo (**figura 10-A**).

Transcurridos 60 días de inducción, las aréolas que se habían activado empezaron a desarrollar brotes, los cuales tuvieron un crecimiento entre 0.5 a 1.5 cm de longitud, sin embargo, en las aréolas que estuvieron en contacto directo con el medio de cultivo, se presentó, una ligera oxidación (**figura 10-B**). Es importante señalar que en la zona de corte apical se observó en pocos explantes (2%) la formación de callo, mientras que en los demás, la zona de corte presentó una tenue oxidación así como el desarrollo de nuevos brotes, el cual pudiera indicar que el tejido cerró la herida del corte (**figura 10-C**).

El tratamiento con el mayor número de brotes fue la combinación de ANA/BA 0.1/3.0 mg/l (T8) obteniendo 5.28 brotes por explante con una longitud promedio de 1.2 cm (figura 7-D) con un total de 74 en el tratamiento (Gráfica 3). El tratamiento control formó 2.3 brotes por explante con una longitud de 0.5 cm en promedio, sin embargo los tratamientos con ANA/BA 0/2 mg/l (T3), 0.1/2 mg/l (T7), 0.2/1 mg/l (T10), 0.2/3 mg/l (T12) y 0.5/3 mg/l (T16), generaron de 4.6 a 4.8 brotes por explante (tabla 14). De todos los brotes formados transcurridos 60 días de inducción, en los diferentes tratamientos sólo 8 (4%), generó al menos una raíz adventicia, éstas en algunos casos llegaron a medir 2 cm de longitud estando en contacto con el medio de cultivo. (figura 10-E).



Gráfica 3. Brotes generados a partir de secciones de tallo de *A. flagelliformis*, en medio MS con reguladores de crecimiento. Resultado después de 60 días de cultivo *in vitro*.

En general, bajos niveles de auxina o ausencia de ellas son requeridas, en combinación con moderados o altos niveles de citocininas para la proliferación de brotes axilares en cactáceas (Hubstenberger *et al.*, 1992). Por lo que el efecto de BA sobre la capacidad para inducir la regeneración de plantas en miembros de la Familia Cactaceae, es frecuentemente reportado, así como la acción de BA en combinación con ANA, (Martínez-Vázquez y Rubluo, 1989).

Por lo que estos resultados se pueden comparar con los obtenidos por Flores-Rentería (2007), para *Mammillaria coahuilensis*, donde el mayor número de brotes, 21.25 por explante, fue con la adición de BA 1 mg/l, seguido de la concentración con BA 0.5 mg/l que generó 9.8 brotes, provenientes de explantes laterales aproximadamente a los 42 días de inducción, mientras que González-Caballero (2008) para *Turbinicarpus pseudopectinatus*, reportó que el mayor número de brotes por explante ocurrió con ANA/BA 0.5/2.0 mg/l, donde obtuvo 3 brotes por explante en promedio, vía

organogénesis directa, aproximadamente a los 40 días después de la siembra en el medio de inducción, estos resultados obtenidos, demuestran que concentraciones bajas o nulas de ANA, en combinación de 1mg/l de BA, aumenta la proliferación de brotes axilares en diversas cactáceas, teniendo los cultivos en un periodo de inducción de 40 a 60 días.

De igual forma Pérez-Molphe Balch *et al.*, (1998), reportaron la mayor formación de brotes para *Astrophytum myriostigma*, *Cephalocereus senilis*, *Coryphanta durangensis*, *Echinocereus dubis*, *E. pectinatus*, *Ferocactus histrix* y *Mammillaria sphacelata*, con el tratamiento suplementado con ANA/BA (0.01/1 mg/l), teniendo un rango de proliferación de 2.82 a 17.50 brotes por explante, mientras que para *Ferocactus hamatacanthus*, *F. latispinus*, *F. pilosus*, *Mammillaria formosa* y *M. obscura*, el mayor número de brotes formados lo obtuvieron con el tratamiento ANA/BA (0.1/1 mg/l), con un rango de 4.42 a 5.83 brotes por explante.

Sin embargo, Infante (1992) encontró que para la micropropagación de *Mediocactus coccineus*, después de 8 semanas en inducción, el tratamiento suplementado con ANA/BA (0.1/0.05 mg/l), generó 7.8 brotes por explante con una longitud de 1.4 cm en promedio a partir de explantes basales seccionados transversalmente.

Tabla 14. Formación de brotes por tratamiento (60 días).

T	Concentración mg/l		N. explantes con Brote/N. explantes	Brotes por explante \bar{x} (DS)	Longitud \bar{x} (cm)	N. de brotes con raíz
	ANA	BA				
1	0	0	9/20 (45%)	2.30 ± 2.54	0.5	3
2	0	1	7/20 (35%)	3.8 ± 1.57	0.7	2
3	0	2	12/20 (60%)	4.5 ± 2.23	1.2	0
4	0	3	13/20 (65%)	3.46 ± 1.94	1.0	0
5	0.1	0	6/20 (30%)	3.30 ± 2.58	0.5	2
6	0.1	1	11/20 (55%)	4.2 ± 1.84	1.3	0
7	0.1	2	13/20 (65%)	4.8 ± 3.18	1.0	0
8	0.1	3	14/20 (70%)	5.28 ± 2.78	1.2	0
9	0.2	0	6/20 (30%)	2.3 ± 1.03	1.0	0
10	0.2	1	7/20 (35%)	4.71 ± 3.6	1.2	0
11	0.2	2	13/20 (65%)	4.23 ± 3.2	0.9	0
12	0.2	3	13/20 (65%)	4.46 ± 3.69	1.3	0
13	0.5	0	7/20 (35%)	1.42 ± 0.76	0.9	1
14	0.5	1	8/20 (40%)	3.87 ± 2.43	1.0	0
15	0.5	2	9/20 (45%)	4 ± 2.28	1.1	0
16	0.5	3	4/20 (20%)	4.5 ± 1.97	1.0	0

DS = Desviación Estándar

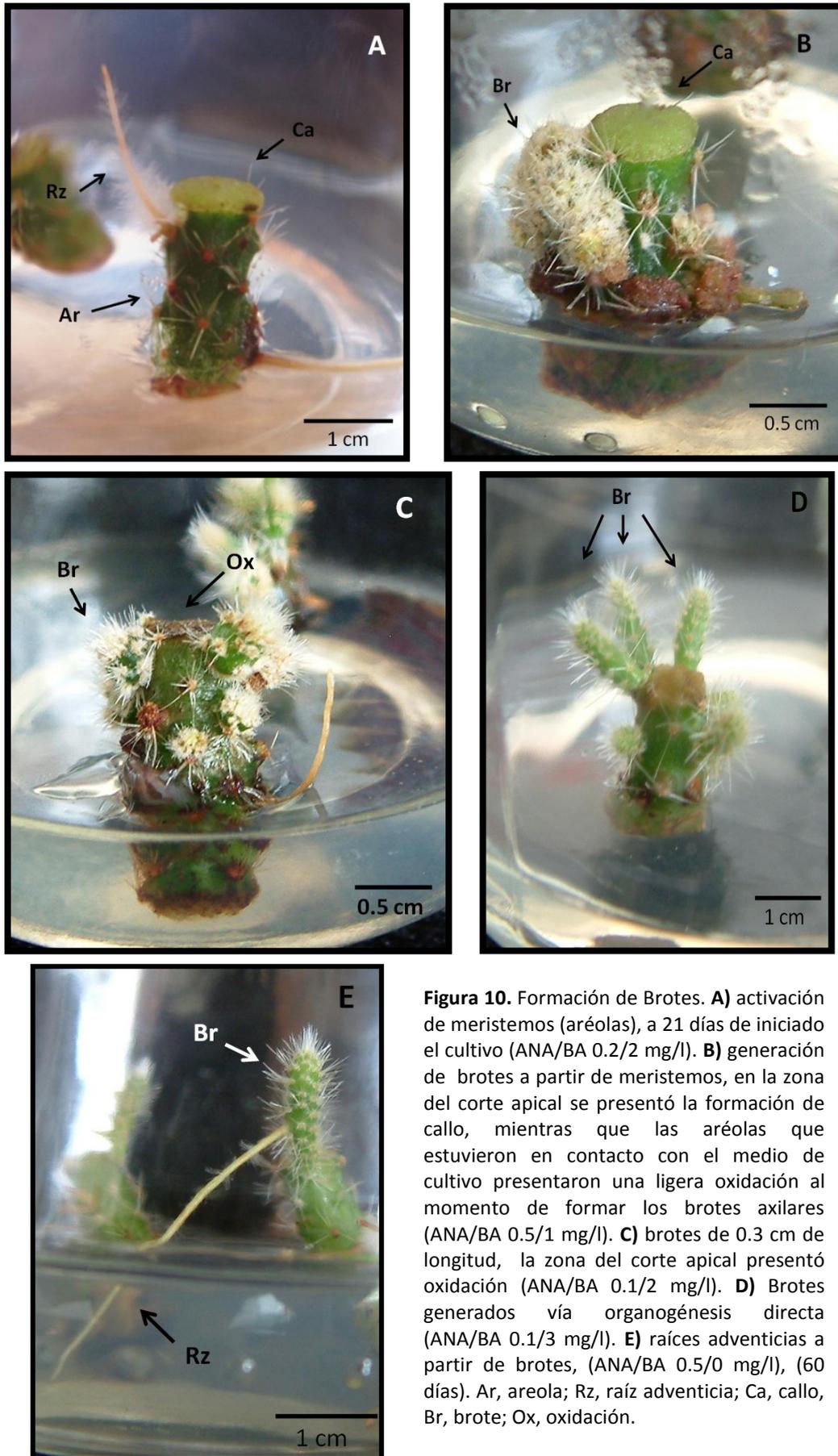


Figura 10. Formación de Brotes. **A)** activación de meristemas (aréolas), a 21 días de iniciado el cultivo (ANA/BA 0.2/2 mg/l). **B)** generación de brotes a partir de meristemas, en la zona del corte apical se presentó la formación de callo, mientras que las aréolas que estuvieron en contacto con el medio de cultivo presentaron una ligera oxidación al momento de formar los brotes axilares (ANA/BA 0.5/1 mg/l). **C)** brotes de 0.3 cm de longitud, la zona del corte apical presentó oxidación (ANA/BA 0.1/2 mg/l). **D)** Brotes generados vía organogénesis directa (ANA/BA 0.1/3 mg/l). **E)** raíces adventicias a partir de brotes, (ANA/BA 0.5/0 mg/l), (60 días). Ar, areola; Rz, raíz adventicia; Ca, callo, Br, brote; Ox, oxidación.

Los estudios de micropropagación de cactáceas sugieren que las combinaciones de reguladores de crecimiento requeridas para la proliferación de brotes axilares, es única para cada especie e investigaciones subsecuentes han confirmado que las diferentes combinaciones de auxinas y citocininas son necesarias para la proliferación de brotes axilares (Hubstenberger *et al.*, 1992).

En este estudio, los tratamientos suplementados con concentraciones de ANA (0.1, 0.2 y 0.5 mg/l) sin la adición de BA, fueron los que menor número de brotes generaron, sin presentar la proliferación de callo, siendo el tratamiento 13 con la adición de ANA (0.5 mg/l) el de menor formación de brotes con 1.42 brotes por explante con un total de 10 brotes en todo el tratamiento al cabo de 60 días de inducción, sin embargo, este produjo en promedio 2.4 raíces a partir de los explantes, mientras que el tratamiento control obtuvo 2.3 brotes por explante en el mismo tiempo que el tratamiento 13, sin la formación de raíces a partir del explante, lo cual podría indicar que la auxina ANA está induciendo la formación de raíces en lugar de la formación de callo, ya que los tratamientos suplementados con ANA sin la presencia de BA, formaron raíces a partir del explante, lo que sustenta la necesidad de la utilización de BA en concentraciones \geq 1 mg/l, son necesarias para la proliferación de brotes axilares.

Formación y desarrollo de brotes y raíces

De los tres procesos de regeneración de plantas por cultivos *in vitro*: (1) producción de brotes a partir de meristemos preexistentes, (2) generación de brotes adventicios vía organogénesis indirecta y (3), embriogénesis somática directa o indirecta, varios géneros de la Familia Cactaceae han sido estudiados, en particular especies del género *Mammillaria*, las cuales han sido exitosamente propagadas por los dos primeros procesos (Rubluo, 1997), sin embargo, en este estudio, el método de regeneración fue el primero, ya que al no presentarse una proliferación masiva de callo o una embriogénesis somática en los tejidos, la regeneración de brotes axilares resultó como el único en esta investigación para la micropropagación de *A. flagelliformis*, dando por consiguiente una organogénesis directa en todos los tratamientos empleados.

Después del periodo de inducción los brotes formados empezaron a desarrollarse e incrementar su tamaño, por lo que entre los días 150 y 180 de iniciado el cultivo, los brotes mostraron un ensanchamiento y elongación dando por consiguiente la formación de espinas y aréolas, asemejando a los tallos de la planta madre. Sin embargo, aunque hubo este desarrollo en la mayoría de los brotes regenerados, persistió en algunos casos la oxidación de los explantes iniciales, que ocasionó una disminución en el número de brotes.

Transcurridos entre 210–240 días de iniciado el cultivo, los brotes regenerados presentaron indicios de raíces adventicias, por lo que alrededor de los 270 días se dio una proliferación y crecimiento de las mismas en varios de los brotes en los diferentes tratamientos (**figura 11-A**).

Las raíces adventicias son las raíces que se originan a partir del cambium vascular, por lo que pueden surgir de una serie de localizaciones tisulares a partir de grupos de células maduras que renuevan su actividad de división celular. Estas células en división se convierten en meristemos apicales de la raíz de modo análogo a la formación de raíces laterales (Taiz y Zeiger, 2006).

Los tratamientos que presentaron mayor formación de raíces adventicias en los brotes regenerados, fueron los suplementados con ANA/BA (0.5/0 mg/l) y ANA/BA (0.5/2 mg/l), con el 81.8% y 64.6% respectivamente, por lo que en cultivos de *A. flagelliformis* es necesario, niveles de ≥ 0.5 mg/l de ANA, para la formación de raíces adventicias, ya que, los de menor respuesta fueron los tratamientos con ANA/BA 0.2/0 mg/l, ANA/BA 0.2/1 mg/l y ANA/BA 0.2/3 mg/l, con el 9.0%, 13.9% y 16.3% respectivamente (**figura 11-B, tabla 15**).

La proliferación de las raíces adventicias se dio en tratamientos suplementados con ANA/BA (0.5/1 mg/l) y ANA/BA (0.5 /2 mg/l) formando de 5 a más raíces adventicias por brote (**figura 11-C**), aunque el tratamiento con ANA/BA (0/1 mg/l), se obtuvo de igual forma que los dos anteriores un mayor número de raíces adventicias generadas por los brotes, por lo que la adición de ANA al medio de cultivo no fue indispensable para la formación de raíces adventicias, ya que, de igual forma en el tratamiento control el 33.3% de los brotes generados formó raíces adventicias con una proliferación de 1 a 2.

Mientras que la formación de raíces a partir de los explantes se presentó dentro de los primeros 60 días de iniciados los cultivos, siendo los tratamientos ANA/BA (0.2/0 mg/l) y ANA/BA (0.5/0 mg/l), los de mayor respuesta de los explantes así como los de mayor longitud en la formación de raíces adventicias, después de 270 días, por contaminación y/o oxidación, hubo una disminución en el número de explantes que la presentaron, a pesar de estas dificultades, estos tratamientos, fueron respectivamente los de mayor respuesta con el 25% y 55% de raíces adventicias, el tratamiento 13 fue el único que pudo generar de 3 a 4 raíces por explante. Mientras que los tratamientos 1 (ANA/BA 0/0 mg/l), 3 (ANA/BA 0/2 mg/l), 7 (ANA/BA 0.1/02 mg/l), 11 (ANA/BA 0.2/2 mg/l) y 12 (ANA/BA 0.2/3 mg/l) no presentaron la formación de raíces adventicias, por lo que de acuerdo con Taiz y Zeiger (2006), la formación de raíces laterales y las raíces adventicias se estimulan con niveles elevados de auxinas, sin embargo niveles excesivos pueden inhibir este crecimiento.

Los tratamientos ANA/BA (0/1 mg/l) y ANA/BA (0/3 mg/l), generaron al menos de 1 a 2 raíces adventicias, por lo que se podría decir que los explantes presentaron auxinas endógenas permitiendo establecerlos como esquejes o microesquejes.

Tabla 15. Formación de raíces adventicias en explantes y brotes (270 días).

T	Concentración (mg/l)		Formación de raíces adventicias			
	ANA	BA	Explante	Proliferación	Brote	Proliferación
1	0	0	0/20 (0%)	-	5 (33.3%)	+
2	0	1	2/20 (10%)	+	18 (51.4%)	+++
3	0	2	0/20 (0%)	-	45 (56.9%)	++
4	0	3	1/20 (5%)	+	16 (42.1%)	+
5	0.1	0	3/20 (15%)	+	7 (35.0%)	+
6	0.1	1	2/20 (10%)	+	29 (45.3%)	+
7	0.1	2	0/20 (0%)	-	13 (27.6%)	++
8	0.1	3	1/20 (5%)	+	15 (27.2%)	++
9	0.2	0	5/20 (25%)	+	2 (9.0%)	+
10	0.2	1	1/20 (10%)	+	6 (13.9%)	+
11	0.2	2	0/20 (0%)	-	26 (55.3%)	++
12	0.2	3	0/20 (0%)	-	8 (16.3%)	++
13	0.5	0	11/20 (55%)	++	18 (81.8%)	++
14	0.5	1	3/20 (15%)	+	22 (44.9%)	+++
15	0.5	2	1/20 (5%)	+	42 (64.6%)	+++
16	0.5	3	1/20 (5%)	+	6 (24.0%)	+

RzA= Raíz adventicia

+, Poco (de 1 a 2 RzA por brotes); ++, Medio (de 3 a 4 RzA por brotes), +++, Moderado (de 5 a más RzA por brotes).

La formación de raíces adventicias fue un factor para el mayor desarrollo de los brotes, ya que los que las generaron y estuvieron en contacto directo con el medio de cultivo tuvieron un mejor crecimiento, engrosamiento y elongación, mientras que los brotes que aunque formaron raíces adventicias y estas no estuvieron en contacto con el medio, los brotes tuvieron un menor grosor del tallo, así como la elongación de los mismos resultado afectada, e inclusive en algunos casos, los tallos tuvieron una coloración amarillenta.

Resulta de vital importancia que las raíces estén en contacto directo con el medio, por lo que, se tomo la medida de solidificar el medio de cultivo de manera inclinada, para que las raíces adventicias que generaron los brotes estuvieran en contacto con el medio y pudieran desarrollarse de manera más adecuada, esta respuesta de los brotes nos confirmó que las raíces adventicias no sólo son de soporte para la planta sino para la absorción de nutrientes. Es importante señalar que la formación de raíces adventicias es poco reportada en la Familia Cactaceae, ya que esta respuesta morfogénica, se presenta por lo general en especies de la tribu Hylocereeae.

Mauseth (1979) reportó la formación de raíces adventicias espontáneamente en cultivos *in vitro* a partir de tallos de un híbrido del género *Epiphyllum*, por lo que las plantas regeneradas pudieron ser transferidas a condiciones *ex vitro* dentro del primer mes de iniciado el cultivo, mientras que en *Hylocereus undatus* (Mohamed-Yasseen, 2002), al igual que *Selenicereus megalanthus* (Pelah *et al.*, 2002), no reportaron la formación de raíces adventicias, siendo ambas de la tribu Hylocereeae al igual que *Aporocactus flagelliformis*.

Al cabo de 450 días de iniciados los cultivos, los tratamientos ANA/BA (0/2 mg/l) y ANA/BA (0.1/1 mg/l), presentaron el mayor número de brotes respectivamente, con 110 y 160 así como la regeneración de 7.3 y 10.6 brotes por explante, con una elongación de 2.1 a 3.0 cm respectivamente (**figura 11-D, 11-E**), observando que las concentraciones bajas de auxinas con citocininas y/o las citocininas solas, indujeron un mayor desarrollo y formación de brotes. Estos dos grupos de hormonas regulan el ciclo celular vegetal, siendo las citocininas las de mayor importancia, ya que son necesarias para inducir la división celular de las células vegetales *in vitro*, las cuales ocurren en una planta adulta en zonas meristemáticas (Taiz y Zeiger, 2006).

Ramírez-Malagón *et al.*, (2007), reportaron que las diez especies que estudiaron del género *Mammillaria* tuvieron respuestas pobres cuando la Kin estuvo ausente en el medio de cultivo, sugiriendo que las citocininas son esenciales para la organogénesis de los brotes. Sin embargo, Zamora-Maldonado (2007) reportó que para *Thelocactus bicolor* la presencia en el medio de cultivo de BA no influyó en la regeneración de brotes, ya que el mejor tratamiento fue el suplementado con ANA 0.5 mg/l con 16 brotes en todo el tratamiento.

La regeneración de brotes vía organogénesis indirecta se considera como uno de los métodos más eficientes para la micropropagación, un ejemplo es el reportado por Mata-Rosas *et al.* (2001), para *Turbinicarpus laui*, donde la mayor regeneración de brotes se dio en el tratamiento suplementado con BA (1.8 mg/l) al cabo de 30 semanas de iniciado el cultivo se obtuvieron 269.78 brotes por explante, seguido del tratamiento con ANA/BA (2.7/0.5 mg/l), el cual presentó 146.2 brotes por explante, de igual forma para *Mammillaria san-angelensis*, Martínez-Vazquez y Rubluo (1989) reportaron que los tratamientos con BA 0.1 mg/l y BA/ANA 0.1/0.01 mg/l presentaron más de 100 brotes por explante cada uno.

Sin embargo, Pérez-Molphe Balch *et al.*, (1998) reportaron que para especies como *Astrophytum myriostigma*, y *Mammillaria sphaelata* suplementados con ANA/BA 0.01/1 mg/l, formaron 9.23 y 17.5 brotes por explante, mientras que para *M. candida*, *Stenocactus sp.* y *S. coptonogus*, suplementados con BA 1 mg/l, formaron 13.25, 12.05

y 16.75 brotes por explante, siendo la proliferación axilar de brotes el método de propagación, estos resultados son muy similares a los obtenidos en nuestro estudio, donde las mayores proliferaciones de brotes ocurrieron en los tratamientos suplementados con BA 2 mg/l y ANA/BA 0.1/1 mg/l con 7.3 y 10.6 brotes por explante respectivamente.

Se realizó un análisis estadístico (ANOVA) para demostrar si existieron diferencias significativas, en la formación de brotes a los 450 días de cultivo, entre los tratamientos, dando como resultado que en al menos un tratamiento existe alguna diferencia significativa, por lo que posteriormente se realizó la prueba de rangos múltiples de Duncan, para evaluar los resultados de la mayor formación de brotes en los diferentes tratamientos aplicados a *A. flagelliformis*, los resultados fueron que los tratamientos suplementados con BA 2 mg/l y ANA/BA 0.1/1 mg/l con 7.3 y 10.6 brotes por explante respectivamente, fueron los de mayor generación de brotes en todo el experimento, con una significancia del 0.5.

Por lo que, el efecto de citocininas particularmente BA y su capacidad para inducir la regeneración de miembros de la Familia Cactaceae ha sido reportada con anterioridad, siendo la combinación de BA con la auxina ANA las de mayor éxito para la micropropagación *in vitro* de esta familia (Martínez-Vázquez y Rubluo, 1989).

Los tratamientos ANA/BA (0.5/0) y ANA/BA (0.2/0 mg/l), fueron los de menor regeneración de brotes con 1.9 y 2.3 por explante respectivamente. Sin embargo, estos dos tratamientos, fueron los de mayor crecimiento promedio de brotes con 3.6 cm y 3.4 cm respectivamente, esto se pudo deber a la formación y proliferación de raíces adventicias las cuales ayudan al crecimiento y desarrollo de los brotes. La formación de raíces adventicias se vio favorecida en estos tratamientos, en los dos tratamientos se presentó una proliferación de raíces adventicias a partir del brote, con una generación de 5 a más raíces adventicias por brote, mientras que el tratamiento control, generó 1.53 brotes por explante, presentando de 3 a 4 raíces adventicias por brote y con una longitud promedio de 2.2 cm (**tabla 16**).

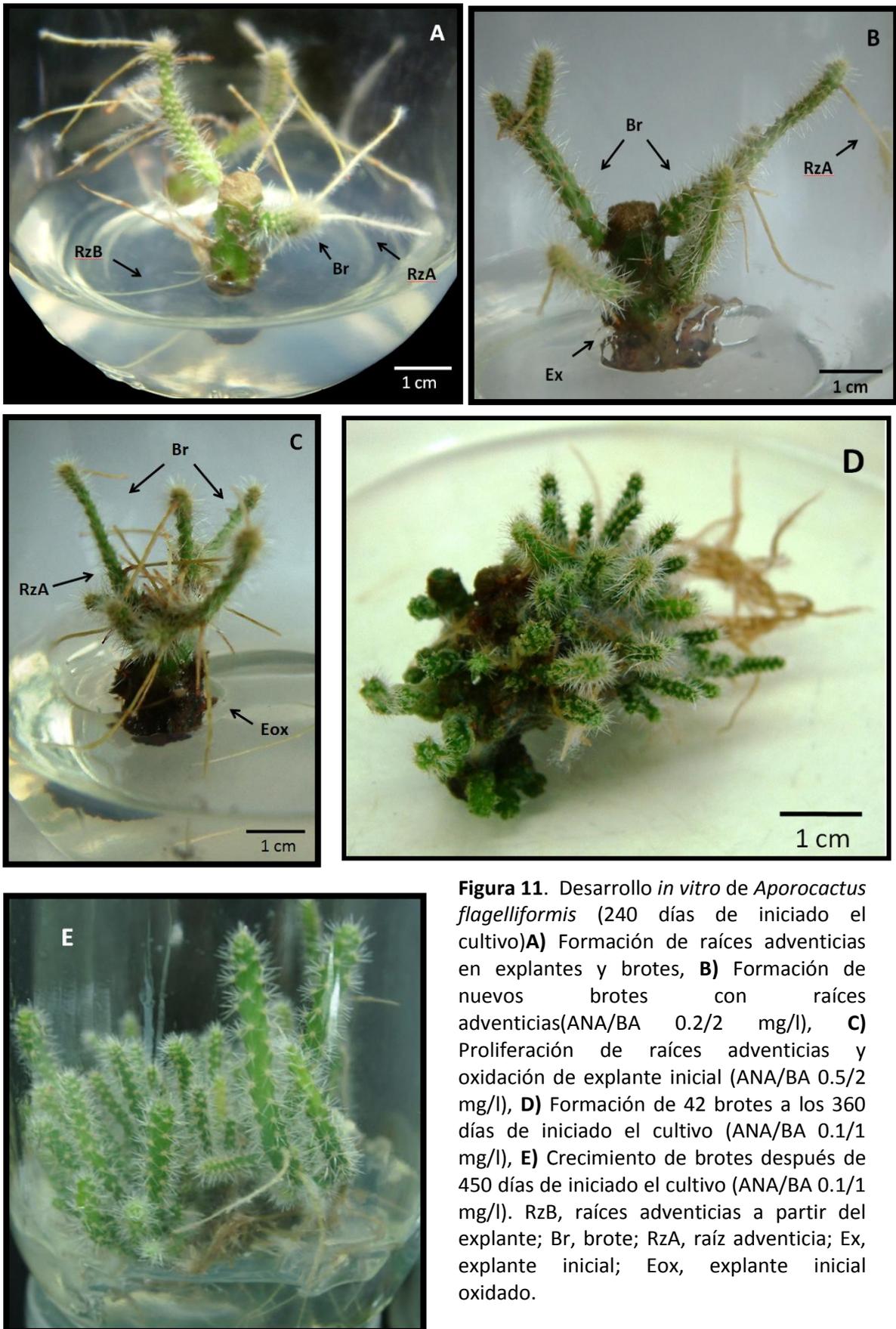


Figura 11. Desarrollo *in vitro* de *Aporocactus flagelliformis* (240 días de iniciado el cultivo) **A)** Formación de raíces adventicias en explantes y brotes, **B)** Formación de nuevos brotes con raíces adventicias (ANA/BA 0.2/2 mg/l), **C)** Proliferación de raíces adventicias y oxidación de explante inicial (ANA/BA 0.5/2 mg/l), **D)** Formación de 42 brotes a los 360 días de iniciado el cultivo (ANA/BA 0.1/1 mg/l), **E)** Crecimiento de brotes después de 450 días de iniciado el cultivo (ANA/BA 0.1/1 mg/l). RzB, raíces adventicias a partir del explante; Br, brote; RzA, raíz adventicia; Ex, explante inicial; Eox, explante inicial oxidado.

Tabla 16. Formación de brotes (450 días de iniciado el cultivo).

T	Concentración mg/l		N. de explantes con Brote/ N. explantes	N. de Brotes Total	Brotes por explante (\bar{x})	Longitud (\bar{x})	Formación de raíz adventicia
	ANA	BA					
1	0	0	11/20 (55%)	23	1.53	2.2	++
2	0	1	12/20 (60%)	76	5.06	1.5	+
3	0	2	11/20 (55%)	110	7.3	2.1	++
4	0	3	13/20 (65%)	50	3.3	1.7	+
5	0.1	0	7/20 (35%)	47	3.13	2.0	++
6	0.1	1	9/20 (45%)	160	10.6	3.0	++
7	0.1	2	14/20 (70%)	84	5.6	2.3	++
8	0.1	3	13/20 (65%)	88	5.8	2.5	++
9	0.2	0	9/20 (45%)	35	2.3	3.4	+++
10	0.2	1	8/20 (40%)	43	2.8	2.5	++
11	0.2	2	13/20 (65%)	86	5.73	1.9	+
12	0.2	3	13/20 (65%)	75	5	2.6	++
13	0.5	0	11/20 (55%)	29	1.9	3.6	+++
14	0.5	1	11/20 (55%)	60	4	1.8	+
15	0.5	2	12/20 (60%)	48	3.2	2.5	+
16	0.5	3	8/20 (40%)	54	3.6	2.2	++

+, Poco (de 1 a 2 RzA por brotes); ++, Medio (de 3 a 4 RzA por brotes), +++, Moderado (de 5 a más RzA por brotes).

Hiperhidratación

Existen diversos problemas frecuentes para la propagación de plantas por medio de cultivos *in vitro*, siendo los más comunes: la asepsia de los cultivos, la oxidación, la estimulación y diferenciación del callo, la hiperhidratación de los tejidos, entre otros. Este último, es desorden en la morfología y fisiología de las plantas regenerados en cultivos *in vitro*. Estas malformaciones están asociadas con una excesiva hidratación y la morfogénesis anormal de los brotes, los cuales se tornan de una apariencia vidriosa, suculenta y clorótica (Rubluo, 1990; Debergh *et al.*, 1992; Pérez-Molphe *et al.*, 1998; Mayor *et al.*, 2003; Aíra de Medeiros *et al.*, 2005; Sarasan *et al.*, 2006).

La hiperhidratación se presentó solamente en el 2% de los explantes a los 60 días de iniciado el cultivo, ésta comenzó con la formación de brotes que estaban en contacto directo con el medio de cultivo, tornándose de forma engrosada, así como en la periferia del brote, se observó la aparición de tonalidades rojizas, asemejando a indicios de oxidación (**figura 12-A**).

Trascurridos 150 días los brotes que estaban en contacto directo con el medio, empezaron a hiperhidratarse, sin tener una distinción de las aréolas, ni espinas, alrededor de los brotes se presentó una oxidación más severa (**figura 12-B**). Esta se volvió más evidente a los 210 días transcurridos, por lo que los brotes se tornaron de un color café rojizo, sin la formación de nuevos brotes o raíces adventicias (**figura 12-C**).

De acuerdo con Collin y Edwards (1998), la hiperhidratación en el cultivo *in vitro*, puede deberse a un alto nivel de CO₂, así como las concentraciones de etileno y vapor de agua, de igual forma, el alternar la orientación o polaridad de los tallos, raíces y hojas respecto a la gravedad, pudieran provocar esta respuesta.

Por lo que, para el cultivo de *Aporocactus flagelliformis*, es importante remarcar la polaridad de los explantes, pudiera ser que los brotes hiperhidratados, sean a consecuencia del cambio en la gravedad de la planta, ya que éstos, comenzaron a formarse en las partes basales de los tallos, en comparación con los demás explantes que por lo general tuvieron una formación de brotes en partes más apicales, donde las aréolas no estaban en contacto directo con el medio de cultivo.

En los explantes que si se respetó su polaridad, las aréolas formaron brotes de aspecto normal, aunque, las aréolas que formaron brotes y estas estuvieron en contacto directo con el medio de cultivo, presentaron indicios de hiperhidratación, los cuales propiciaron un ensanchamiento del tallo, así como oxidación en aréolas y ausencia de espinas. Sin embargo, estos tallos promovieron la formación de brotes en la parte

apical, esta respuesta morfogénica solo se presentó en 2 explantes, por lo que se podría decir que las condiciones *in vitro*, no difieren mucho a las condiciones ambientales en las que se encuentra la planta en su estado natural.

La hiperhidratación y la formación de callo, no fueron excesivas, por lo que los explantes y los brotes conservaron su morfología asemejando a la planta madre (**figura 12-D**).

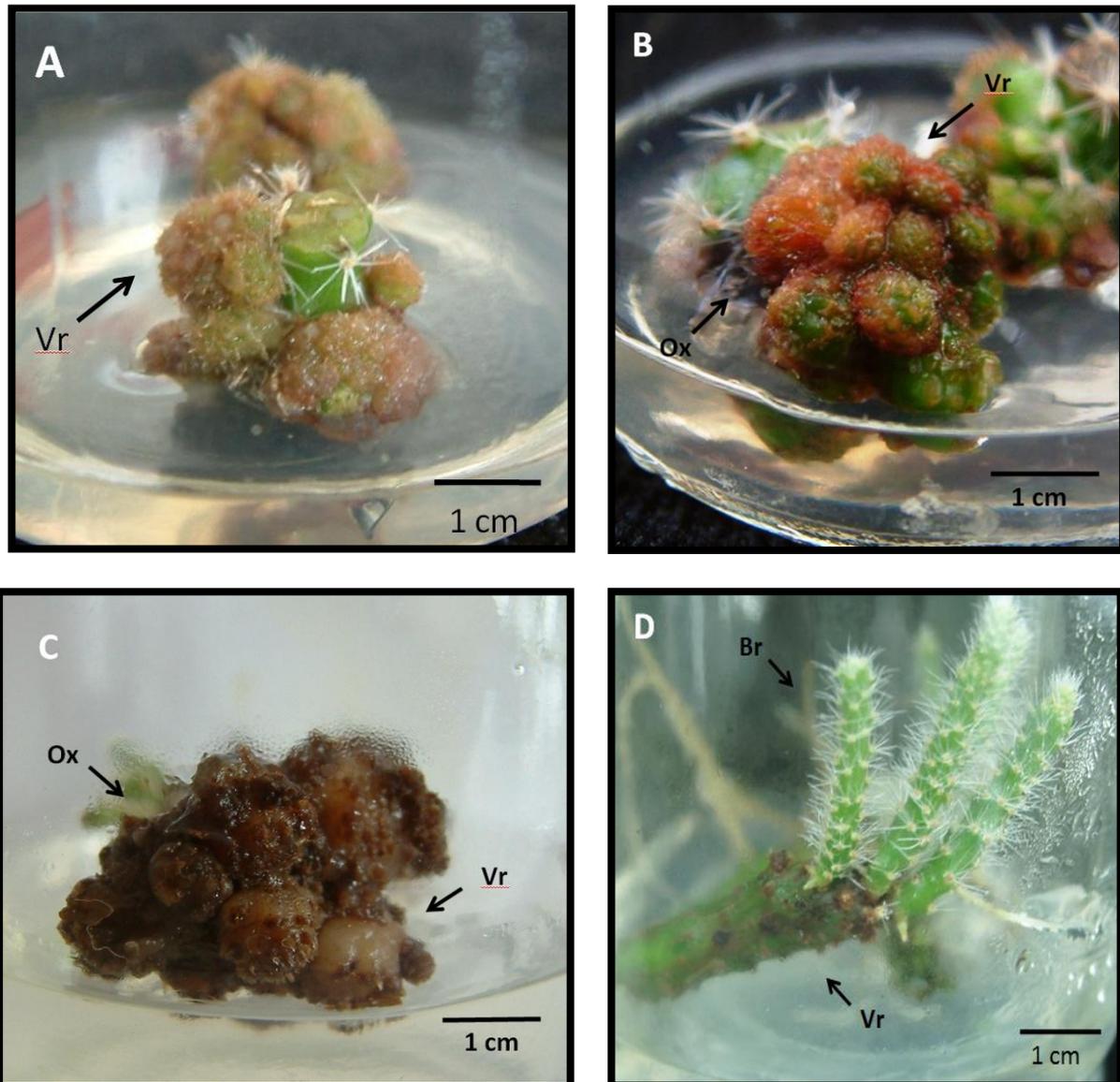


Figura 12. Brotes hiperhidratados. **A)** Formación de brotes en parte basal del explante (ANA/BA 0/3 mg/l), **B)** Crecimiento y ensanchamiento de brotes, con indicios de oxidación (ANA/BA 0/3 mg/l), **C)** brotes oxidados en su totalidad (ANA/BA 0/3 mg/l) **D)** Brote hiperhidratado, sin formación de espinas y oxidación en areolas, así como la presencia de brotes en la parte apical sin hiperhidratación. Vr, Brote hiperhidratado; Ox, oxidación, Br, Brote.

La hiperhidratación no fue severa como la reportada por Zamora (2007) para *Thelocactus bicolor*, la cual se presentó en el 67% de brotes regenerados, mientras que Giusti (2002), reportó para *Mammillaria pectinifera* y *Pelecyphora aselliformis* el 62.4% y 63.7% respectivamente, mientras que Pérez-Molphe Balch *et al.*, (1998), reportaron tejidos con hiperhidratación en especies como *Astrophytum myriostigma*, *Coryphantha radians*, *Mammillaria candida*, *M. craigii*, *M. formosa*, *M. obscura*, *M. sphacelata* y *M. uncinata*, sin embargo, para *Pelecyphora aselliformis* y *P. strobiliformis* (Pérez-Molphe Balch y Dávila-Figueroa, 2002), ocurrió en menos del 5% de los brotes regenerados en total, por lo que la susceptibilidad a la hiperhidratación varía dependiendo de la especie (Debergh *et al.*, 1992).

Individualización de brotes

El enraizamiento de los brotes es una de las partes más importantes para cualquier propagación *in vitro*. Ya que los brotes provenientes de la etapa II, pueden ser pequeños y todavía no pudieran ser autosuficientes para sobrevivir en suelo. Por lo que en la etapa III, los brotes o grupos de brotes son individualizados, lo cual induce a la elongación y formación de raíces de los mismos (George *et al.*, 2008).

Los brotes se individualizaron cuando alcanzaron de 1 a 3 cm de longitud y con al menos una raíz adventicia. Se cultivaron de tal manera que las raíces estuvieran en contacto con el medio de cultivo, mientras que en la zona del corte presentaron una oxidación ligera, la cual no afectó su desarrollo (**figura 13-A, 13-B**).

Pocas especies forman raíces adventicias en los brotes durante esta etapa, por lo que usualmente es necesario utilizar diferentes medios, concentraciones de hormonas, en especial auxinas, carbón activado, entre otros para inducir la formación de raíces (George *et al.*, 2008).

Sin embargo, para el cultivo de *A. flagelliformis*, esto no fue necesario, ya que de manera espontánea, los brotes formaron raíces a partir de los primeros 15 días de ser individualizados y las raíces preexistentes tuvieron un crecimiento de 3 a 5 cm así como la formación de pelos radicales (**figura 13-C**).

De igual forma para *Echinocereus pentalophus*, Saucedo-Gutierrez (2006), reportó que, su enraizamiento fue sin reguladores de crecimiento, a los 15 días de su individualización se presentó la formación de su sistema radicular, el cual desarrolló pelos radicales. De esta manera especies como *Mammillaria san-angelensis*, *M. haageana*, *M. coahuilensis*, *Mediocactus coccineus*, *Thelocactus rinconensis*, *T. bicolor*, formaron raíces sin reguladores de crecimiento, lo cual indica el potencial regenerativo de algunas especies de la Familia Cactácea (Rubluo *et al.*, 1993; Infante, 1992; Flores-Rentería, 2007; Zamora-Maldonado, 2007; Díaz-Rodríguez, 2007).

Transcurridos aproximadamente 60 días de su individualización, los brotes generaron raíces adventicias, tanto en partes basales y apicales del tallo, lo cual ayudó en su crecimiento y consolidación, asemejando a la planta madre, alcanzando en promedio una longitud de 2 a 4 cm, inclusive en algunos casos alcanzaron de 5 a 7 cm (**figura 13-D**).

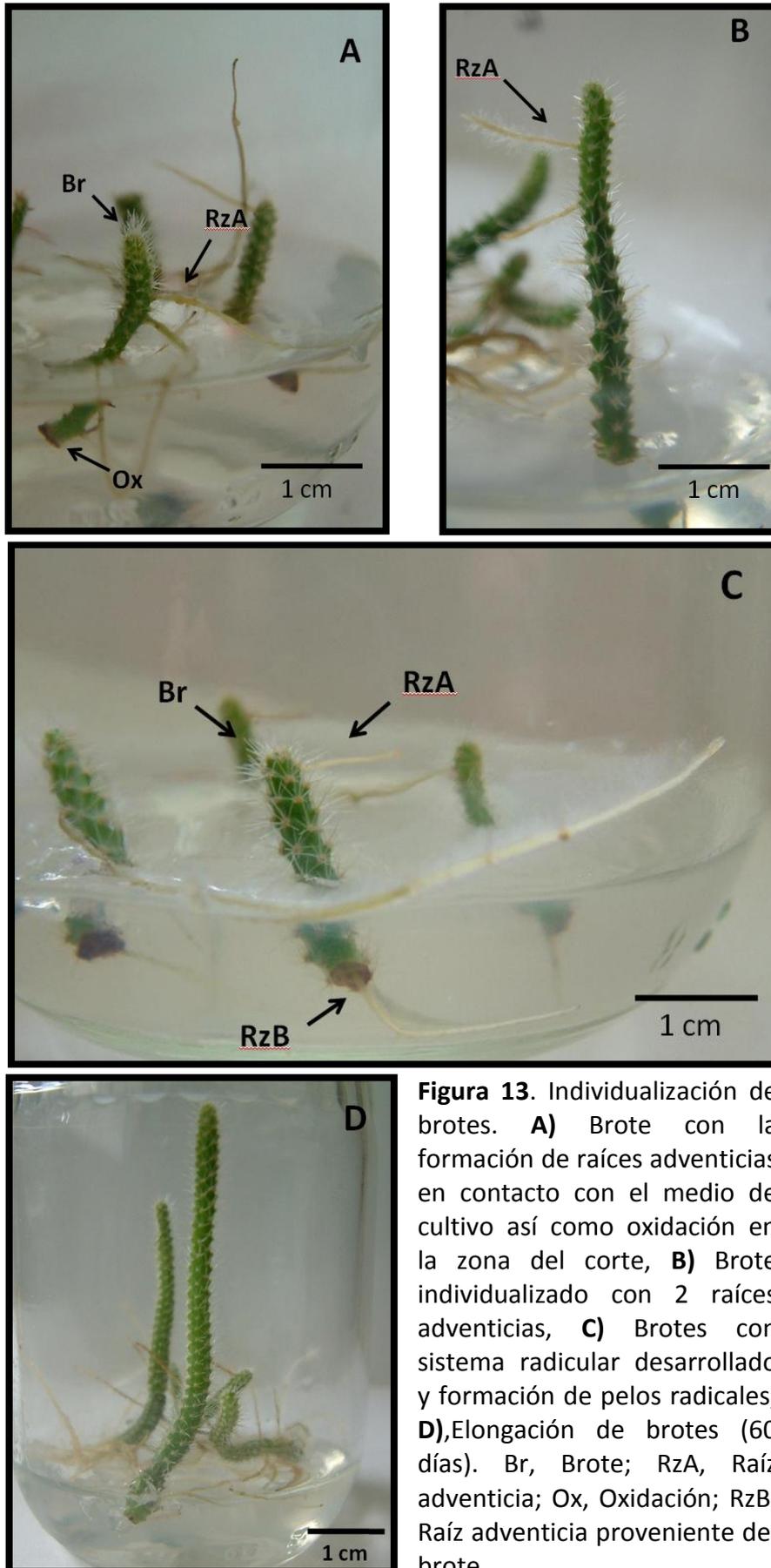


Figura 13. Individualización de brotes. **A)** Brote con la formación de raíces adventicias en contacto con el medio de cultivo así como oxidación en la zona del corte, **B)** Brote individualizado con 2 raíces adventicias, **C)** Brotes con sistema radicular desarrollado y formación de pelos radicales, **D)** Elongación de brotes (60 días). Br, Brote; RzA, Raíz adventicia; Ox, Oxidación; RzB, Raíz adventicia proveniente del brote.

Las cactáceas regeneradas por brotes axilares (vía organogénesis directa) están consideradas genéticamente estables, mientras que otros sistemas de regeneración, por ejemplo, la regeneración de plantas por medio de callo (vía organogénesis indirecta) tiene el problema potencial de la variación somaclonal, aunque en el caso de especies amenazadas esta variabilidad inducida por el cultivo de tejidos puede ser benéfica, favoreciendo la sobrevivencia de las especies al ser introducidas en su hábitat natural (Pérez-Molphe *et al.*, 1998, Rubluo *et al.*, 1993). Por lo que los brotes regenerados de *A. flagelliformis*, se podrían considerar genéticamente estables. Sin embargo, González-Caballero (2008), reportó que, la variabilidad genética de los brotes formados vía organogénesis directa e indirecta de *Turbinicarpus pseudopectinatus*, podría deberse al explante inicial (semillas) y no al proceso de regeneración.

Aclimatización de los brotes regenerados

Durante el crecimiento de plantas en cultivos *in vitro*, éstas se encuentran bajo condiciones especiales, donde los nutrientes están disponibles, la humedad ambiental es alta y la radiación lumínica es menor que en un cultivo convencional. Estas condiciones dan como resultados, en algunos casos, plántulas con morfología, anatomía y fisiología anormales, lo cual complica su establecimiento a condiciones *ex vitro* (Pospíšilová *et al.*, 1999).

Por lo que un aspecto crucial en la propagación *in vitro* es procurar que el total de las plantas regeneradas sean capaces de sobrevivir en condiciones *ex vitro*. Uno de los mayores problemas que se presenta en la aclimatización es la deshidratación justo después del trasplante a condiciones *ex vitro* (Malda *et al.*, 1999).

Para efectuar la aclimatización se emplearon brotes de 1 a 3 cm de longitud (**figura 14-A**), con la formación de al menos una raíz adventicia mayor a 1 cm de longitud. Se obtuvo un porcentaje de sobrevivencia del 85% con 343 brotes, siendo en total 150 plantas aclimatizadas al cabo de 6 meses (**figura 14-B, 14-C, 14-D**).

Este porcentaje es similar al obtenido con *Thelocactus bicolor* con el 81% de sobrevivencia de los brotes, sin embargo especies como *Turbinicarpus laui*, Mata *et al.* (2001), reportaron un 94% de sobrevivencia, de igual forma Pérez-Molphe y Dávila-Figueroa, (2002) para *Pelecyphora aselliformis* y *P. strobiliformis*, lograron una sobrevivencia del 88% en promedio.

Aunque la pérdida de agua es relativamente significativa durante la aclimatización, en algunas especies de la Familia Cactaceae, es posible que el cuerpo suculento permite a las plantas sobrevivir y recuperarse a la deshidratación (Malda *et al.*, 1999). Sin embargo en *Aporocactus flagelliformis*, la principal causa de mortandad durante la etapa de aclimatización fue deshidratación en los tejidos de la planta.



Figura 14. Acclimatización. **A)** Brote mayor a 1 cm de longitud con al menos 1 raíz adventicia, **B)** Indicios de la formación de nuevos brotes, así como el desarrollo de pelos radicales, **C)** Elongación y ensanchamiento de los brotes, **D)** Plantas de *Aporocactus flagelliformis* aclimatizadas. Br, Brote; RzA, Raíz adventicia; Nbr, Formación de nuevos brotes; RzB, Raíz adventicia del brote con pelos radicales.

Acciones y Propuesta de Conservación

La vía más adecuada para la preservación de la flora es la conservación *in situ*. Sin embargo, en los casos en los que ya no es posible realizar el rescate del área natural, donde la velocidad de deterioro del hábitat por diversos factores antropogénicos o cuando las poblaciones de una especie amenazada se han reducido drásticamente y se encuentra al borde de la extinción, los métodos de conservación *ex situ* pueden ser una alternativa viable o el último recurso para evitar la extinción definitiva (Ortega-Larrocea *et al.*, 2009)

Las especies y genes pueden conservarse *ex situ* por distintos mecanismos como bancos de germoplasma, las colecciones de cultivo de tejidos y cultivos microbianos o colecciones de organismos vivos como zoológicos, acuarios y jardines botánicos, este último juega un papel muy importante en la conservación, la educación, la cultura, la investigación científica y el desarrollo sustentable (SEMARNAT, 2002; Lascurain *et al.*, 2006).

Por lo que, la conservación de plantas a través de colecciones vivas bajo condiciones semi-controladas en invernaderos o viveros, siempre deben darse al resguardo de instituciones comprometidas y especializadas como jardines botánicos y centros de investigación y ser manejadas bajo programas especiales, aplicando medidas eficientes de horticultura para mantener las colecciones (Ortega-Larrocea *et al.*, 2009).

Los jardines botánicos, son instituciones que están encargadas de conservar *in situ* o *ex situ* colecciones de plantas vivas (germoplasma vegetal), bajo cierto orden y control específicos, debidamente identificadas y etiquetadas con el propósito de utilizarlas como material de investigación, educación, conservación y recreación. Además son un elemento que apoya a la educación y formación de una conciencia colectiva, a través de los estudios, las investigaciones y la difusión acerca de la importancia e interrelación de las plantas y animales (Linares, 1994).

La conservación biológica, representa el asegurar el mantenimiento, la sobrevivencia, reproducción y diversidad genética natural. Es de mucha importancia lograr la conservación de especies amenazadas, así como la de las poblaciones asociadas. Por lo que la participación de cada jardín botánico, en la determinación de especies de interés regional, es de vital importancia para la conservación, sin embargo, esta participación, se ve limitada por la falta de jardines botánicos en diversos estados de la República Mexicana (**tabla 17**).

Tabla 17. Jardines Botánicos en México (Rodríguez-Acosta, 2000).

Estado	No. JB	Estado	No. JB
Aguascalientes	1	Morelos	2
Baja California Norte	0	Nayarit	0
Baja California Sur	1	Nuevo León	3
Campeche	2	Oaxaca	2
Coahuila	2	Puebla	3
Colima	0	Querétaro	2
Chiapas	2	Quintana Roo	2
Chihuahua	0	San Luis Potosí	0
Durango	0	Sinaloa	2
Distrito Federal	3	Sonora	0
Estado de México	6	Tabasco	3
Guanajuato	1	Tamaulipas	1
Guerrero	1	Tlaxcala	2
Hidalgo	2	Veracruz	5
Jalisco	2	Yucatán	2
Michoacán	0	Zacatecas	0

Coombes *et al.*, (2003) compilaron una lista de las especies de plantas registradas en 16 jardines botánicos en México. Los cuales cuentan con 198 familias y 3275 especies, lo que representa más del 10% del total de las especies registradas de México. Aunque no todas las especies incluidas en estos jardines son nativas. Estos autores registran 21 familias con más de 20 especies cada una, las cuales suman en total 2,426, siendo las cactáceas, orquidáceas y agaváceas las más destacadas en cuanto a su número (**tabla 18**).

De un total de 1588 especies amenazadas en México, según la Unión Mundial para la Naturaleza (Walter y Gillet 1998), 417 de ellas, gran parte nativas del país se encuentran en jardines botánicos (**tabla 19**).

De acuerdo con Coombes *et al.*, (2003), se puede determinar que los 16 jardines botánicos registrados para el 2003, albergan aproximadamente 363 especies de los 980 taxa incluidos en la NOM-059-ECOL-2001 (Semarnat, 2002) (**Tabla 20**). Lo que significa que los jardines botánicos se tiene aproximadamente 37% de especies dentro de la NOM-059-ECOL-2001, donde las Familias Cactaceae, Orchidaceae, Palmae, Zamiaceae, Magnoliaceae, Nolinaceae, Agavaceae y Crassulaceae, están representadas en una buena porción, sin embargo, Familias como Pinaceae, Bromeliaceae, Rubiaceae, Fabaceae y Cyatheaceae, requieren mayores esfuerzos de conservación *ex situ* en los jardines botánicos.

Tabla 18. Familias y número de especies en los Jardines Botánicos (Coombes *et al.*, (2003).

Familia	Especies
Cactaceae	757
Orchidaceae	370
Agavaceae	225
Arecaceae	145
Fabaceae	127
Crassulaceae	115
Asteraceae	91
Euphorbiaceae	74
Zamiaceae	63
Araceae	62
Poaceae	55
Bromeliaceae	53
Solanaceae	46
Fagaceae	38
Nolinaceae	34
Moraceae	33
Rubiaceae	32
Commelinaceae	28
Apocynaceae	26
Rutaceae	26
Verbenaceae	26
Total	2 426

Tabla 19. Especies Amenazadas en México y especies representes en los jardines botánicos mexicanos (Coombes *et al.*, 2003).

Categoría	Especies amenazadas en México	Especies en jardines botánicos
Vulnerable	443	143
Raras	801	185
Indeterminadas	110	36
En peligro	234	53
Total	1 588	417*

* Aproximadamente el 90% son endémicas de México.

Tabla 20. Especies incluidas en la NOM-059-ECOL-2001, documentadas en el año 2003 en 16 jardines botánicos (Coombes *et al.*, 2003).

Familia	NOM-059-ECOL-2001	Especies en jardines botánicos
Aceraceae	2	2
Agavaceae	39	29
Anacardiaceae	2	1
Bromeliaceae	21	3
Cactaceae	285	188
Chrysobalanaceae	1	1
Combretaceae	2	1
Cornaceae	1	1
Crassulaceae	18	9
Cupressaceae	6	2
Cyatheaceae	13	1
Fabaceae	16	1
Fouquieriaceae	5	2
Lauraceae	1	1
Magnoliaceae	5	4
Marattiaceae	2	1
Nolinaceae	16	11
Nymphaeaceae	5	2
Orchidaceae	181	26
Palmae	64	34
Pinaceae	36	4
Polypodiaceae	6	1
Rhizophoraceae	1	1
Rubiaceae	20	1
Sapotaceae	2	1
Sterculiaceae	1	1
Verbenaceae	1	1
Zamiaceae	43	32
Zygophyllaceae	2	1
Total	797	363

Por lo que una de las familias más importantes para México con fines de conservación es la Familia Cactaceae, la cual ha sido afectada por la actividad humana, a través de la destrucción de su hábitat, colecta ilegal, entre otras. Por lo que muchas de estas especies se encuentran amenazadas o en peligro de extinción. Más de 60 especies están en la lista roja de la IUCN y alrededor de 40 especies están incluidas en el apéndice I de la CITES, mientras que en la Nom-052-Ecol-2001, se encuentran

alrededor de 258 especies. Debido al alto número de especies amenazadas o en peligro de extinción, es importante obtener información acerca de la biología, ecología, distribución geográfica, nivel de endemismo, así como impulsar la conservación *ex situ* e *in situ*, al igual que la propagación de esta familia, por métodos que no perjudiquen a sus poblaciones naturales (Anderson, 2001; Godínez-Álvarez y Ortega-Baes, 2007).

En el estudio realizado por Godínez-Álvarez y Ortega-Baes (2007), muestran que los estados de San Luis Potosí, Coahuila, Nuevo León, Oaxaca, Zacatecas, Tamaulipas y Sonora, presentan más de 100 especies de la Familia Cactaceae. El nivel de endemismo y la riqueza específica, indica que estos estados son necesarios para conservar el 80% de la diversidad total de cactáceas, por lo que es de gran alarma que no existan jardines botánicos en estados donde se encuentra un gran número de endemismos.

Aporocactus flagelliformis se encuentra en 3 de los 7 estados con el mayor número de especies de cactáceas en México, por lo que resulta importante señalar que la conservación *ex situ* e *in situ* de ésta y otras especies de cactáceas, es primordial para no perder la diversidad vegetal de nuestro país. Por lo que, se realizó la donación de un total de 100 plantas con aproximadamente de 3 a 4 brotes en promedio, que separándolos potencialmente podrían ser entre 300 y 400 individuos de *Aporocactus flagelliformis*, a diferentes jardines botánicos de la Ciudad de México (**tabla 21**), lo cual abre la posibilidad de realizar una conservación *ex situ* de ésta y otras especies, que se encuentren o no amenazadas y/o en peligro de extinción.

Tabla 21. Donación de plantas de *A. flagelliformis* a diversos jardines botánicos, para su conservación *ex situ*.

Jardín botánico	Ciudad	Plantas Donadas (año 2009-2010)
Chapultepec	México	25
IBUNAM	México	25
FES Iztacala	Estado de México	25
CICEANA	México	25

El cultivo *in vitro* es un eficiente método para la conservación *ex situ* de la diversidad genética. La conservación de especies permitirá también la preservación de las interrelaciones con otros organismos (Giusti, 1999; Ortega-Larrocea, *et al.*, 2009).

Por lo que en el laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales de Instituto de Biología de la UNAM, se mantienen diversos lotes de *A. flagelliformis* en cultivos *in vitro*, que ayudan a la conservación y propagación de la especie.

Propuesta de aprovechamiento

Las cactáceas son, sin lugar a dudas las plantas más emblemáticas y representativas de nuestro país. Sin embargo, los esfuerzos por rescatar y protegerlas son complicados, ya que la mayoría presentan un lento crecimiento y tienen ciclos de vida muy largos. Por otro lado, los desmontes para los cambios de uso de suelo han perturbado los hábitats naturales de las cactáceas, además de la sobre explotación, el comercio ilegal y el saqueo de poblaciones silvestres de cactáceas es una lamentable realidad que afecta a los ecosistemas áridos y semiáridos en donde habita la mayor cantidad de estas especies, esto pone en riesgo a las poblaciones naturales; atenta directamente contra los productores establecidos que cuentan con los requerimientos de ley; contribuye al empobrecimiento de la biodiversidad biológica nacional y se considera un robo a la nación (Reyes, 2009).

En estas circunstancias, diversas instituciones gubernamentales y no gubernamentales, desarrollan estrategias de conservación encaminadas a la preservación de las cactáceas, tales como la protección de germoplasma, la reforestación, propagación y cultivo de cactus en viveros, con el propósito de proteger a las poblaciones naturales para su uso, aprovechamiento sustentable y conservación de recursos para disfrute y admiración de futuras generaciones (Reyes, 2009).

En el presente estudio, la propagación y establecimiento de plantas de *Aporocactus flagelliformis*, da las bases para su aprovechamiento como planta con potencial ornamental, diversas Unidades de Manejo para la Conservación y Aprovechamiento de la Vida Silvestre (UMA'S) dedicadas a la comercialización de cactáceas como SUCCUSMEX® (D.F.), CACTIMEX® (Coahuila), CACTUSMX® (Morelos), CACTIBIOSFERA® (Jalisco), Vivero Cactus® (Jalisco), Cultivadores de Cactus® (Puebla) entre otras, no se propaga esta especie, la cual actualmente, en la Ciudad de México se comercializa ilegalmente en mercados de plantas de la delegación Xochimilco, por lo que es necesario, la comercialización legal de esta especie con potencial ornamental, así como su conservación.

Por lo que se recomienda, que para su cultivo, tenga una mezcla de tezontle, tepojal y tierra negra en proporción de 3:3:1 o .3:3:2, que permite drenar el exceso de agua; de igual forma la exposición a la luz solar solo debe de ser las primeras horas del día (7am – 12 pm) o resolana, el riego puede efectuarse 1 a 2 veces cada 15 días, mientras que su cultivo debe de ser en macetas de tipo colgante, lo que permite que sus tallos puedan desarrollarse de manera adecuada, los cuales pueden alcanzar 2 metros de largo y las flores se pueden formar a lo largo de éste.

Esta especie podría considerarse como planta con potencial ornamental e inclusive medicinal, y por medio del Cultivo de Tejidos Vegetales se puede efectuar su micropropagación, aprovechamiento y comercialización, sin afectar a las poblaciones naturales. De esta forma se propone establecerla comercialmente de manera legal dentro de Jardín Botánico del Instituto de Biología de la UNAM, en tiendas asociadas como Tigridia, dando en la compra, un folleto de su cultivo e importancia de esta especie, lo cual ayudaría a la conservación y mantenimiento de la planta (**Figura 15**).

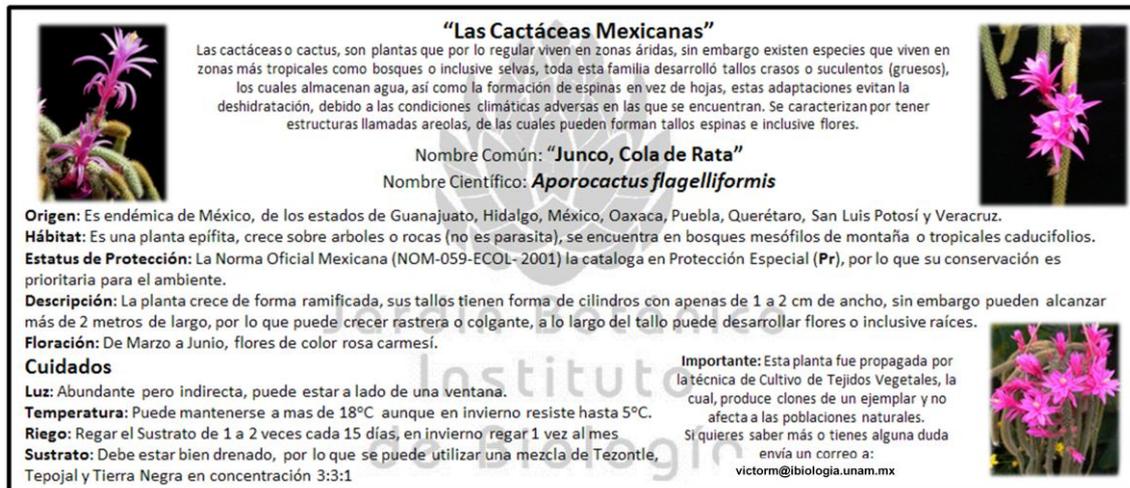


Figura 15. Tríptico informativo sobre el cultivo, importancia y cuidados de *Aporocactus flagelliformis*

Aunado a esta propuesta, se realizaron pláticas acerca de la Familia Cactaceae en centros importantes de divulgación: Universum, Museo de las Ciencias, el Museo de Geología del Instituto de Geología de la UNAM y en el Jardín Botánico de CICEANA.

Entre los puntos principales se incluyeron, un panorama general de las cactáceas, importancia, distribución, problemática, ejemplo de algunas especies (incluido la especie *Aporocactus flagelliformis*), cultivo y mantenimiento.

En este estudio se propone, al igual que Corona y Chimal (2006) establecer a *A. flagelliformis* como planta con potencial ornamental y medicinal (Bravo-Hollis, 1978; Aguilar, 1994; Andrade-Cetto, 2005), por lo que la micropropagación, es un punto esencial para su conservación, aprovechamiento y comercialización a través de la biotecnología (Rubluo, 1997; Malda *et al.*, 1999; Hubstenberger, 1992) como lo ha sido con *Mammillaria san-angelensis* (Martínez-Vázquez y Rubluo, 1989) y *Turbincarpus laui* (Mata-Rosas *et al.*, 2001), cactáceas endémicas de México en peligro de extinción.

Conclusiones

- ◆ El proceso de desinfección empleado para *A. flagelliformis* permitió el establecimiento aséptico del 87% de los explantes.
- ◆ La oxidación ocurrió sólo en el 11% de los explantes, con la utilización de PVP 1g/l en el medio de cultivo así como el enjuague de los explantes en una solución de agua destilada + ácido ascórbico (250mg/l) con ácido cítrico (250mg/l).
- ◆ Las respuestas al cultivo *in vitro* de *A. flagelliformis* a los 60 días de iniciado el cultivo (periodo de inducción) fueron:
 - I) Formación de callo en 2% de los explantes,
 - II) Respuestas morfogénicas vía organogénesis directa:
 - a. formación de raíces adventicias en el 21% de los explantes,
 - b. formación brotes en el 76% de los explantes, de los cuales 8 brotes (4%) generó al menos una raíz adventicia.
- ◆ El callo se presentó en tratamientos suplementados con concentraciones de ANA ≤ 0.5 mg/l con BA ≤ 2.0 mg/l, el cual no logró su proliferación ni mantenimiento, al cabo de 5 meses de cultivo, se tornó compacto, con una consistencia dura y cambió de color verde claro a café oscuro, hasta oxidarse completamente.
- ◆ La formación de raíces adventicias a partir del explante, se presentó en los tratamientos con concentraciones de ANA ≥ 0.1 mg/l con BA ≤ 3.0 mg/l, el tratamiento con ANA/BA 0.2/0 mg/l generó el mayor número de raíces adventicias (75%), con 2 raíces por explante y con un crecimiento promedio de 2.5 cm de longitud, a los 60 días en inducción.
- ◆ La mayor formación de brotes al cabo de 60 días de iniciado el cultivo, ocurrió en el tratamiento suplementado con ANA/BA 0.1/3.0 mg/l obteniendo 5.28 brotes/explante con una longitud promedio de 1.2 cm.
- ◆ La formación de brotes al cabo de 450 días de iniciado el cultivo en todo el experimento fue de 1068, los tratamientos con la mayor formación de brotes fueron los suplementados con ANA/BA 0.1/1 mg/l y ANA/BA 0/2 mg/l, generando 160 y 110 brotes cada tratamiento respectivamente.

- ◆ Al término de 450 días de iniciado el cultivo el tratamiento suplementado con ANA/BA 0.1/1 mg/l, presentó diferencias significativas junto con el tratamiento ANA/BA 0/2 mg/l, respecto al resto de los tratamientos, generando 10.6 brotes y 7.3 brotes por explante en promedio respectivamente, de acuerdo a la prueba estadística de ANOVA y posteriormente la prueba estadística de Duncan, con el 0.5 de significancia.
- ◆ La auxina ANA indujo a la formación de raíces adventicias a partir de los explantes o brotes. La presencia de raíces favorecieron el crecimiento y desarrollo de los brotes.
- ◆ El tratamiento con mayor formación de raíces adventicias al cabo de 450 días de iniciado el cultivo, fue el suplementado con ANA/BA 0.5/0 mg/l, el cual obtuvo un crecimiento de los brotes de 3.6 cm
- ◆ La polaridad de los explantes al momento del cultivo es importante para el desarrollo adecuado de los brotes.
- ◆ Los explantes que posiblemente se cultivaron con la polaridad invertida presentaron problemas de hiperhidratación.
- ◆ Los brotes individualizados, al cabo de 15 días después del corte, presentaron la formación de raíces adventicias sin la adición de auxinas al medio de cultivo.
- ◆ Se aclimatizaron 150 plantas de *A. flagelliformis*, las cuales al cabo de 6 meses, el porcentaje de sobrevivencia a condiciones *ex vitro* fue del 85%.
- ◆ La propuesta de conservación *ex situ* a través de Jardines botánicos pudiera ser un método eficaz para la conservación de *A. flagelliformis*.
- ◆ La propagación por medio del cultivo de tejidos de *A. flagelliformis* y posterior comercialización, son la bases para el aprovechamiento de esta especie sin necesidad de afectar poblaciones silvestres.
- ◆ Este estudio, es la base para la propagación, conservación y aprovechamiento de *A. flagelliformis*, la cual se propone establecerla como planta con potencial ornamental, sin embargo, también sirven como antecedente para posteriores estudios como planta con potencial medicinal para padecimientos del corazón y diabetes. Este estudio contribuye de manera importante a la propagación *in vitro* y conservación de especies de hábito epífita y rupícola de la Familia Cactaceae.

Bibliografía

- ◆ Aguilar, C.A. 1994. Plantas medicinales del herbario del IMSS, Cuadros Básicos Por Aparatos y Sistemas del Cuerpo Humano. Primera edición, México, IMSS.
- ◆ Alcántara-Ayala, O. y Luna-Vega, I. 2001. Análisis florístico de dos áreas con bosque mesófilo de montaña en el estado de Hidalgo, México: Eloxochitlán y Tlahuelompa. *Acta Botánica Mexicana*. (54): 51-87.
- ◆ Álvarez-Sánchez, J. 1993. Contribución de la Sociedad Mexicana de Botánica a la Investigación y Conservación de la Biodiversidad. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*. (44):51-57.
- ◆ Anderson, E. 2001. *The Cactus Family*. Timber Press. Portland . USA. pp. 19-101.
- ◆ Andrade-Cetto, A. 2005, Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology* 99: 325-348.
- ◆ Anicua, J. 2000. Micropropagación y evaluación del estatus metabólico *in vitro* de tres especies de cactáceas endémicas y amenazadas o en peligro de extinción. (*Mammillaria bocasana*, *M. carmenae* y *Echinocactus grusonii*). Tesis Licenciatura (Biología). Universidad Nacional Autónoma de México. Escuela Nacional de Estudios Superiores Iztacala.
- ◆ Arias, S., S. Gama y L. Guzmán. 1997. Flora del valle de Tehuacán-Cuicatlan. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México. 146 p.
- ◆ Arias, S., M., T. Valverde y J. Reyes. 2001. Las plantas de la región de Zapotitlán de las Salinas, Puebla. Instituto Nacional de Ecología-SEMARNAT, Universidad Nacional Autónoma de México, México. pp. 10-11.
- ◆ Barthlott, W. and D. Hunt. 1993. Cactaceae. The families and genera of vascular plants. Vol. II. K. Kubitzki. USA.
- ◆ Bhojwani, S. S. y M. K. Razdan. 1983. *Plant tissue culture: Theory and practice*. Elsevier Science Publisher.
- ◆ Bravo-Hollis, H. y H. Sánchez-Mejorada. 1978. *Las cactáceas de México Vol. I*. Segunda edición. Universidad Nacional Autónoma de México. México. pp. 743-750.
- ◆ Bravo-Hollis, H. y L. Scheinvar. 1995. El interesante mundo de las cactáceas. Fondo de Cultura Económica. México. pp. 233-250.
- ◆ Becerra, R. 2000. Las cactáceas, plantas amenazadas por su belleza. *Biodiversitas* 32: 2-5.

- ◆ Benítez, H. y P. Dávila. 2002. Las Cactáceas Mexicanas en el contexto de la CITES. *Biodiversitas* 4: 8-11.
- ◆ Bonga J. M. y P. von Aderkas. 1992. *In vitro* culture of trees. Kluwer Academic Publishers, Netherlands. 236 p.
- ◆ Challenger, A. 1998. Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México. Pasado, Presente y futuro. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. pp. 269-293.
- ◆ CITES. 2001. Comercio de cactus mexicanos (venta de cactus en internet). Undécima reunión del Comité de flora Langkawi (Malasia). PC11 Doc. 21.2.
- ◆ CITES. 2003. Check list of species CITES. WCM-PNUMA. 339 p.
- ◆ Collin, H. A. and S. Edwards. 1998. Plant Cell Culture. Bios Scientific Publisher Limited. Guildford, United Kingdom.
- ◆ CONABIO, 1998. La diversidad biológica de México: Estudio de País. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. pp. 25-250.
- ◆ Coombes, A.J., S. Barreiro-Zamorano y M. Rodríguez-Acosta. 2003. Lista de plantas en los Jardines Botánicos de México. Asociación Mexicana de Jardines Botánicos. A.C. México.
- ◆ Cordero, C. y E. Morales. 1998. Panorama de la biodiversidad de México Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México.
- ◆ Corona, V. y A. Chimal. 2006. Plantas mexicanas con potencial ornamental. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco. México. 133 p.
- ◆ Corona, V. y V. Chávez-Ávila. 1982. Cultivo de Cactáceas en medios asépticos. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. (87): 17-23.
- ◆ Damiano, C., P. Curir, T. Cosmi and B. Rurtoni. 1986. Tissue culture of *Mammillaria* spp. *Journal of Horticultural Science*. (3): 804
- ◆ Debergh, P., D. Aitken-Christiem, B. Cohen, S. Grout, Von Arnold, R. Zimmerman and M. Ziv. 1992. Reconsideration of the term “vitrification” as used in micropropagation. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 30:135-140.
- ◆ Díaz-Rodríguez, B. 2007. Propagación *in vitro* de *Thelocactus rinconensis* (Poselger) Britton y Rose (Cactaceae) especie endémica amenazada. Tesis de Licenciatura (Biología). Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. pp 50-51.

- ◆ Dodds, J. H. and L. W. Roberts. 1982. Experiments in plant tissue culture. Cambridge University Press. USA. 50 p.
- ◆ Evans, D. E., J.O. Coleman and A. Kears. 2003. Plant cell culture. Scientific Publishers. USA. 194 p.
- ◆ Falk, D. A. 1990. Integrated strategies for conserving plant genetic diversity. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. (77): 38-47.
- ◆ Fay, M. F. 1994. In what situation is *in vitro* culture appropriate to plant conservation?. *Biodiversity and Conservation*. (3): 176-183.
- ◆ Fay, M. F. and J. Gratton. 1992. Tissue culture of cacti and other succulents. A literature review and report on micropropagation at Kew. *Bradleya* (10): 33-48.
- ◆ Flores, O y P. Gerez. 1995. Biodiversidad y conservación en México: Vertebrados, vegetación y uso de suelo. Universidad Nacional Autónoma de México/ Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México.
- ◆ Flores-Renteria D. Y., 2007. Propagación *in vitro* de *Mammillaria coahuilensis* (Boed). Moran (Cactaceae), especie endémica amenazada del estado de Coahuila. Tesis Licenciatura (Biología). Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias. pp 42-52.
- ◆ Franco-Martínez, I. 1997. Legislación y conservación. En: *Suculentas Mexicanas, cactáceas*. CVS Publicaciones-CONABIO-UNAM-Semarnap, México.
- ◆ Galván Torres A., 2005. Micropropagación de *Neoxbaumia tetetzo* (Cactaceae) del Valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla, con fines de conservación *ex situ*. Tesis de Licenciatura (Biología). Universidad Nacional Autónoma de México. Escuela Nacional de Estudios Profesionales, Iztacala.
- ◆ García, E. 1989. Diversidad climática vegetal en México. Simposio sobre Diversidad Biológica de México. Oaxtepec, Morelos.
- ◆ Gaspar, T., C. Kevers, C. Penel, H. Greppin, D. Reid and T. Thorpe. 1996. Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. *In vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*. (32): 272-289.
- ◆ George, E. F. and P. D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories*. Exegetics Limited, United Kingdom. 709 p.
- ◆ George, E. 1993. *Plant Propagation by tissue culture. 1. The Technology* Exegetics Limited. United Kingdom. 574 p.

- ◆ George, E., M. Hall and G. De Klerk. 2008. Plant Propagation by Tissue Culture. Vol 1. The Background. 3rd edición. Springer. Netherlands. pp 34-36.
- ◆ Giusti, P., D. Vitti, F. Fiocchetti, G. Colla, F. Saccardo and M. Tucci. 2002. *in vitro* propagation of three endangered cactus species. *Scientia Horticulturae*. (95):319-332.
- ◆ Gómez-Hinostrosa, C. and H. Hernández. 2000. Diversity, geographical distribution, and conservation of cactaceae in the Mier y Noriega region, México. *Biodiversity and Conservation*. Springer. pp. 403-405.
- ◆ González-Caballero, O. 2008. Regeneración *in vitro* de *Turbincarpus pseudopectinatus* (Backeb.) Glass & R. A. Foster y análisis de los regenerantes por RAPDs. Tesis de Maestría. (Biología experimental). Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. pp. 50-75.
- ◆ Guzmán, U. S. Arias y P. Dávila. 2003. Catálogo de cactáceas mexicanas. Universidad Nacional Autónoma de México. México. p. 25.
- ◆ Guzmán, U., S. Arias y P. Dávila. 2007. Catálogo de autoridades taxonómicas de las cactáceas (Cactaceae: Magnoliopsida) de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México. Base de datos SNIB-CONABIO, proyectos Q045 y AS021. México.
- ◆ Haberer, G. and J. Kieber. 2002. Cytokinins. New insights into a classic phytohormone. *Plant Physiology*. (128): 354-362.
- ◆ Hartmann, H.T., D.E. Kester., F.T. Davies and R.L. Geneve. 1997. Plant propagation: Principles and Practices. Prentice Hall. USA. pp. 216-276.
- ◆ Hernández, H. y H. Godínez. 1994. Contribución al conocimiento de las cactáceas mexicanas amenazadas. *Acta Botánica*, Abril, Numero 026. Instituto de Ecología A.C. Pátzcuaro, México. pp. 33-52.
- ◆ Hopkins, W. G. 2004. Introduction to plant physiology. John Wiley & Sons, Inc; USA.
- ◆ Hubstenberger, J. F., P. W. Clayton and G. C. Phillips. 1992. Micropropagation of cacti (Cactaceae). In Bajaj, P. S., 1992. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Vol. 20, High-Tech and Micropropagation VI. Springer-Verlag, Germany.
- ◆ Hunt, D. 1999. CITES. Cactaceae checklist. Royal Botanic Gardens Kew and International Organization for Succulent Plant Study, United Kingdom.

- ◆ Infante, R. 1992. Micropropagation of *Mediocactus coccineus* SD. (Yellow pitaya). In Bajaj, Y. P. S. Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 40. Hig-Tech and Micropropagation VI. Springer. Germany. pp. 206-210.
- ◆ INE. 1994. Catálogo de jardines botánicos mexicanos y colecciones afines. Instituto Nacional de Ecología. México.
- ◆ INE. 1997. Documento preparado por la Unidad Coordinadora de Áreas Nacionales Protegidas del INE. Instituto Nacional de Ecología. México.
- ◆ IUCN. 1994. IUCN Red List Categories. IUCN, Gland, Suiza.
- ◆ Janzen, D.H. 1988. Tropical dry forest: the most endangered major tropical ecosystem. Biodiversity. National Academy Press, USA. pp. 130-137.
- ◆ Kolar, Z., J. Bartek and B. Vyskot. 1976. Vegetative propagation of the cactus *Mammillaria woodsii* through tissue cultures. *Experientia*. (32): 668-669.
- ◆ Johnson, J. L. and E. R. Emino. 1979. *In vitro* propagation of the cactus *Mammillaria elongata*. *Journal of Horticultural Science*. (14):605-606.
- ◆ Judd, W. S., C. S. Campbell, E. A. Kellogg, P. F. Stevens and M. J. Donoghue. 2002. *Plant Systematics: A phylogenetic approach*. 2a ed. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, USA.
- ◆ Lambers, H., F. Stuart and T. L. Pons. 1998. *Plant Physiological Ecology*. Springer, New York, USA.
- ◆ Lascurain, M., O. Gómez, O. Sánchez y C. Hernández. 2006. Jardines botánicos, conceptos, operación y manejo. *Asociación Mexicana de Jardines Botánicos. Publicación Especial N.5*. pp. 15-17.
- ◆ Linares, E. 1994. Los Jardines Botánicos de México, su historia, situación actual y retos futuros. *Revista Chapingo*. (2): 29-42
- ◆ Lynch, p. 1999. Tissue culture techniques *in vitro* plant conservation. En: Benson E. (Ed.). *Plant Conservation Biotechnology*. Taylor and Francis. United Kingdom. pp. 41-62.
- ◆ Malda, G., H. Suzán, and R. Backhaus. 1999. *In vitro* culture as a potencial for the conservation of endangered plants possessing crassulacean acid metabolism. *Scientia Horticulturae*. pp. 71-87.
- ◆ Martínez, E. F. and M. M. Martínez. 2002. Propagation of Mexican cacti threatened with extinction. *Cactus and succulent Journal* 74(1): 71-21.

- ◆ Martínez-Vázquez, O. and A. Rubluo. 1989. *In-vitro* mass propagation of the near-extinct *Mammillaria san-angelensis* Sánchez-Mejorada. Journal of Horticultural Science 64 (1): 99-105.
- ◆ Masera, O.R., M. J. Ordoñez and R. Dirzo. 1997. Carbon emissions from Mexican forests: current situation and long-term scenarios. Climate Change. pp. 1-31.
- ◆ Mata-Rosas, M., M. A. Monroy, K. Moebius and V. M. Chávez. 2001. Micropropagation of *Turbinicarpus laui* Glass et Foster, an Endemic and Endangered Species. *In vitro* Cell. Developmental Biology-Plant. (37): 400-404.
- ◆ Mauseth, J. D. 1979. A new method for the propagation of cacti: sterile culture of axillary buds. Cactus & Succulent Journal. (51): 186-187. En Fay, M. F. and Gratton, J. 1992. Tissue culture of cacti and other succulents: a literature review and a report of micropropagation at Kew. *Bradleya* (10):33-48
- ◆ Mayor, M. L., G. Nestares, R. Zorzoli and L. A. Picardi. 2003. Reduction of hyperhydricity in sunflower tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. (72): 99-103.
- ◆ Misawa, M. 1994. Plant tissue culture: an alternative for production of useful metabolites. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome Italy.
- ◆ Mittermeier, R. A. 1988. Primate diversity and the tropical forest. Case studies from Brazil and Madagascar and the importance of the megadiversity countries. En: Wilson, E.O. (ed.). *Biodiversity*. National Academy Press Washington, D.C. pp. 145-154.
- ◆ Moebius-Goldammer, K., M. Mata-Rosas and V. Chávez-Ávila. 1999. Organogenesis and somatic embryogenesis in *Ariocarpus kotschoubeyanus* (Lem.) K. Schum. (Cactaceae), an endemic and endangered Mexican species. *in vitro* Cellular and Developmental Biology-Plant. (39):388.
- ◆ Mohamed-Yasseen, Y. 2002 Micropropagation of pitaya (*Hylocereus undatus*) Britton et Rose. *In vitro* Cell. Developmental Biology-Plant (38): 427-429.
- ◆ Murashige, T. y F. Skoog. 1962. A revised médium from rapid growth and bioassays whit tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. (15): 473-497.
- ◆ Murphy, P. G. and A. E. Lugo. 1986. Ecology of dry Forest. Annual Review of ecology and systematics. pp. 67-88.
- ◆ Nava-Esparza, V.C. y L. L. Yánez. 1984. Propagación de *Cephalocereus senilis* mediante cultivo de tejidos. *Cactáceas y Succulentas Mexicanas*. (29): 3-7.

- ◆ Olalde, G. 2000. Estudio anatómico del tallo en *Aporocactus flagelliformis* (Linne) Lemaire (Cactaceae-Hylocereeae). Tesis de Licenciatura (Biología). Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias.
- ◆ Oldfield, S. 1997. Cactus and succulent plants: status survey and conservation action plan. IUCN/SSC cactus and succulent specialist group. International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, Gland, Switzerland, and Cambridge, United Kingdom.
- ◆ Ortega-Baes, P. and Godínez-Alvarez, H. 2006. Global diversity and conservation priorities in the Cactaceae. *Biodiversity and Conservation*. Springer. pp. 817-820.
- ◆ Ortega-Larrocea, M. del P., A. Martínez-Palacios y V. M. Chávez-Ávila. 2009. Conservación y propagación de orquídeas. En prensa.
- ◆ Pérez-Molphe Balch, E., M. Pérez-Reyes, E. Villalobos-Amador, E. Meza-Rangel, L. Morones-Ruiz and H. Lizalde-Viramontes. (1998). Micropropagation of 21 species of mexican cacti by axillary proliferation. *In vitro Cell Development Biology-Plant* (34): 131-135.
- ◆ Pérez-Molphe Balch, E. and Dávila-Figueroa. 2002. *In vitro* propagation of *Pelecypora aselliformis* Ehrenberg y *P. strobiliformis* Werdermann (Cactaceae). *In vitro Cell Development Biology-Plant* (38): 73-78.
- ◆ Pezoa, A. 2001. Estrategias de conservación de la diversidad biológica. En: F. A. Squeo, G. Arancio y J. R. Gutiérrez (Eds.). Libro rojo de la flora nativa y de los sitios prioritarios para su conservación: Región de Coquimbo. Ediciones Universidad de la Serena. La Serena. Chile. (18): 273-280.
- ◆ Phillips, R. L., S. M. Kaeppeler and P. Olhoft. 1994. Genetic instability of plant tissue cultures: breakdown of normal controls. *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA*. (12): 5222-5226.
- ◆ Pierik, R.L.M. 1990. Cultivo *in vitro* de las plantas superiores. Mundi-Prensa. Madrid, España.
- ◆ Pollard, J. y J. Walker. 1990. *Methods in Molecular Biology, Plant cell and Tissue Culture*. Humana Press. New Jersey. USA. (6): 150-160.
- ◆ Ponce-Vargas, A., I. Luna-Vega, O. Alcántara-Ayala y C. Ruiz-Jiménez, C. 2006. Florística del bosque mesófilo de montaña de Monte Grande, Lolotla, Hidalgo, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* (77): 177-190.
- ◆ Pospíšilova, J. I. Tichá, P. Kadlec, D. Haisel and S. Plzánková. 1999. Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions. *Biologia Plantarum* 42 (4): 481-497.

- ◆ Ramamoorthy, T.P., R Bye, A. Lot, and J. Fa. 1993. Biological diversity of México: Origins and distribution. Oxford University Press. USA. 812 p.
- ◆ Ramirez-Malagon, R., I. Aguilar-Ramirez, A. Borodanenko, L. Pérez-Moreno, J. L. Barrera-Guerra, H. G. Nuñez-Palenius and N. Ochoa-Alejo. 2007. *In vitro* propagation of ten threatened species of *Mammillaria* (Cactaceae). *In vitro Cell Developmental Biology-Plant*. (43):660-665.
- ◆ Razdan, M.K. 2003. Introduction to plant tissue culture. 2ª ed. Enfield. New Hampshire. USA. pp. 233-244.
- ◆ Reed, H. 1997. Cacti under international trade threat. TRAFFIC USA. 10 p.
- ◆ Reyes, J., A. Gutiérrez de la Rosa y B. J. Sevilla. 2006. Producción de cactáceas y suculentas mexicanas. En: Succus. Boletín de difusión de la Sociedad Mexicana de Cactología (2): 1-7.
- ◆ Reyes, J. 2009. Conservación y Restauración de cactáceas y otras plantas suculentas mexicanas. Manual práctico. Comisión Nacional Forestal. Zapopan, Jalisco. México.
- ◆ Robert, M. y V. Loyola. 1985. El cultivo de tejidos vegetales en México. CONACYT, México.
- ◆ Robbins, Christopher S. 2003. Comercio espinoso: Comercio y conservación de cactus en el Desierto Chihuahuense. Traffic Norteamérica. Fondo Mundial para la Naturaleza. Washington D.C. USA. 25-35 p.
- ◆ Rodríguez-Acosta, M. (Ed). 2000. Estrategia de conservación para los Jardines Botánicos Mexicanos. Asociación Mexicana de Jardines Botánicos, A.C., México.
- ◆ Rojas-Aréchiga, M. and C. Vázquez- Yanes. 2000. Cactus seed germination: a review. *Journal of Arid Environments*. (41): 85-104.
- ◆ Rubluo, A. 1990. Aplicaciones biotecnológicas para el rescate de cactáceas en peligro de extinción. *Biotam*. (4): 13-17.
- ◆ Rubluo, A., V. Chávez, A. Martínez and O. Martínez-Vázquez. 1993. Strategies for the recovery of endangered orchids and cacti through *in vitro* culture. *Biological Conservation*. p. 63.
- ◆ Rubluo, A. 1997. Micropropagation of *Mammillaria* species (Cactaceae) en Bajaj, P. S., 1997. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. VOL. 40, High-Tech and Micropropagation VI. Soringer-Verlag, Berlin Heidelberg. Germany.

- ◆ Rubluo, A., T. Marín-Hernández, K. Duval, A. Vargas y J. Márquez-Guzmán. 2002. Auxin induced morphogenetic responses in long-term *in vitro* subcultured *Mammillaria san-angelensis* Sánchez-Mejorada (Cactaceae). *Scientia Horticulturae*. (95): 341-349.
- ◆ Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Editorial Limusa. México. pp. 150-160.
- ◆ Rzedowski, J. 1990. Vegetación potencial, IV.8.2. En: *Atlas Nacional de México*. Vol. II. Instituto de Geografía-UNAM. México.
- ◆ Rzedowski, J. 1993. Diversity and origins of the phanerogamic flora of México. En: Ramamoorthy, T.P., R Bye, A. Lot, y J. Fa. 1993. Biological diversity of México: Origins and distribution. Oxford University Press. USA. p. 129-145.
- ◆ Sánchez-Martínez, E., Chávez-Martínez, R. J., Hernández-Oria, J. y Hernández-Martínez, M. M. 2006. Especies de Cactaceae prioritarias para la conservación en la zona árida queretano hidalguense. CONCYTEC-Jardín Botánica de Cadereyta, "Ing. Manuel González de Cosío". México.
- ◆ Sánchez-Mejorada, H. 1982. Problemas en el control del comercio de cactáceas. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. (27): 27-30.
- ◆ Santos-Díaz. M. S, R. Méndez-Ontiveros, A. Arredondo-Gómez and M. L. Santos-Díaz. 2003. *In vitro* organogénesis of *Pelecypora aselliformis* Erhenberg (Cactaceae). *In vitro Cell Development Biology-Plant*. (39): 480-484.
- ◆ Sarasan, V., R. Cripps, M. M. Ramsay, C. Atherton, M. McMichen, G. Prendergast and J. Rowntree. 2006. Conservation *in vitro* of threatened plants-Progress in the past decade. *In vitro Cell Development Biology-Plant*. (42): 206.
- ◆ Sarukhán, J. y R. Dirzo. 1992. México ante los retos de la biodiversidad. CONABIO.
- ◆ Sarukhán J. y R. Dirzo. 2001. Biodiversity-Rich Countries. En Levin S. (Ed.) *Enciclopedia de la biodiversidad*. Volumen 1. Academia Press. U.S.A. 419 p.
- ◆ Sarukhán, J., J. Soberon y J. Larson-Guerra. 1996. Biological Conservations in a High Beta-diversity Country. En: Di Castri, F. and Younès, T. (eds.) *Biodiversity Science and Development: Towards a New Parthership*. CAB International. UK.
- ◆ Saucedo-Gutiérrez, S. 2006. Regeneración *in vitro* de *Cephalocereus apicicephalium* y *Echinocereus pentalophus*, cactáceas nativas de México. Tesis de Licenciatura (Biología). Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias. pp. 86-88.

- ◆ Scheinvar, L. 2004. Flora Cactológica del estado de Querétaro: diversidad y riqueza. Fondo de Cultura Económica. México. pp. 154-157
- ◆ Semarnat, 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001. Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestre-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Diario Oficial (6 de marzo 2002). México, D.F.
- ◆ Sharp, W. R., R. I. S. Sondahl, L. S. Caldas and S. B. Marafta. 1980. The physiology of *in vitro*, asexual embryogenesis. Horticultural Reviews (2):305-310.
- ◆ Shimomura, T.; Fujihara, K. 1980. Stimulation of axillary shoots formation of cuttings of *Hylocereus trigonus* (Cactaceae) by pre-soaking in Benzyladenine solution. Scientia Horticulturae. (13): 289-296.
- ◆ Smith, R. H., P. J. Burdick, J. Anthony and A. Reilley. 1991. *In vitro* propagation of *Coryphantha macromeris*. Journal of Horticultural Science (26):315.
- ◆ Soberón, J. M. y Llorente, J.B. 1993. La comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad de México CONABIO. Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural. (44): 3-17.
- ◆ Starling, R. J. and J. H. Dodds. 1983. Tissue culture propagation of cacti and other succulents. Bradleya (1):84-90.
- ◆ Taiz, L. and E. Zeiger. 2006 Plant Physiology. Sinauer Associates. USA.
- ◆ Toledo, V. M. 1988. La diversidad biológica de México. Ciencia y Desarrollo. Vol. XIV, Núm. 81: 17-30.
- ◆ Toledo, V. M. and Ordoñez, M. J. 1993. The Biodiversity scenario of México: A Review of terrestrial habitats. En: Ramamoorthy, T.P., R, Bye, Lot, A y Fa, J. 1993. Biological diversity of México: Origins and distribution. Oxford University Press. New York. p. 757-777.
- ◆ Toledo, V. M. y M. Ordóñez. 1996. Mapa: zonas ecológicas, obtenido del proyecto "Diagnóstico de los escenarios de la biodiversidad de México a través de un sistema de información eco-geográfico". INE/UNAM/CONABIO. México.
- ◆ Trejo, V.R.I. 1998. Distribución y diversidad de selvas bajas de México, relaciones con el clima y el suelo. Tesis Doctorado, Facultad de Ciencias, División de estudios de posgrado. Universidad Nacional Autónoma de México. pp. 35-45.
- ◆ Trigiano, R. and Gray, D. 2004. Plant development and biotechnology. CRC Press USA.

- ◆ UICN. 1994. A guide to the Convention on Biological Diversity. Environmental Policy and Law Paper. Cambridge, UK. 30 p.
- ◆ Uribe, L. I. 1998. Influencia de distintos antioxidantes sobre brotación y crecimiento *in vitro* de Ceiba (*Ceiba petandra* L. Gaerth). Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM.
- ◆ Vasil, I. K. 1994. Automation of plant propagation. Plant Cell Tissue Organ Culture. 39: 105-108.
- ◆ Vovides, A., V. Luna y G. Medina. 1997. Relación de algunas plantas y hongos mexicanos raros, amenazados o en peligro de extinción y sugerencias para su conservación. Acta Botánica, Julio, Instituto de Ecología A.C. Pátzcuaro, México. (39): 1-42.
- ◆ Vyskot, B. and Z. Jara. 1984. Clonal propagation of cacti through axillary buds *in vitro*. J. Journal of Horticultural Science (59):449-452.
- ◆ Walter, K.S. and H. J. Gillet. 1998. IUCN. Red list of threatened plants. The World Conservation Union. Gland.
- ◆ Zamora-Maldonado, H. C. 2007. Micropropagación de *Thelocactus bicolor* (Galeotii ex Pfeiff.) Britton & Rose (Cactaceae). Tesis de Licenciatura (Biología). Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias.

ANEXOS

A. Medio MS (Murashige y Skoog, 1962)

Macronutrientes	g/l	g/10 litros
KNO ₃	1.90	19
(NH ₄) NO ₃	1.65	16.5
MGSO ₄ . 7H ₂ O	0.37	3.7
KH ₂ PO ₄ monobásico	0.17	1.7
CaCl ₂ . 2H ₂ O	0.44	4.4
Micronutrientes		
H ₃ BO ₃	0.0062	0.062
MnSO ₄ . H ₂ O	0.01689	0.1689
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	0.0086	0.086
NaMoO ₄ . 2H ₂ O	0.00025	0.0025
CuSO ₄ . 5H ₂ O	0.000025	0.00025
CoCl ₂ . 6H ₂ O	0.000025	0.00025
KI	0.00083	0.0083
Solución quelante		
Fe SO ₄ . 7H ₂ O	0.0373	0.373
NaEDTA	0.0278	0.278
Vitaminas		
Piridoxina-HCl	0.0005	0.005
Tiamina-HCl	0.0001	0.001
Ac. Nicotinico	0.0005	0.005
myo-Inositol	0.10	1.0
Glicina	0.002	0.02
Sacarosa	30	30