



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**



**FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES IZTACALA**

CARRERA DE BIOLOGÍA

**“EFECTO DE LAS HORMONAS ÁCIDO INDOL ACÉTICO Y ÁCIDO INDOL
BUTÍRICO EN LA PROPAGACIÓN *in vitro* DE TRES ESPECIES DE
CACTÁCEAS COLUMNARES”**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I Ó L O G A
P R E S E N T A:
REYNA JAQUELINE RIVERA ROMO

DIRECTORA: M. en C. María del Socorro Sánchez Correa



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

"Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor, la electricidad y la energía atómica: la voluntad."

Albert Einstein.

Aquel que tiene un porqué para vivir se puede enfrentar a todos los "cómos".

Friedrich Nietzsche.

"El amor por todas las criaturas vivientes es el más noble atributo del hombre."

Charles Darwin.

AGRADECIMIENTOS

A mi profesora M. en C. Ma. Del Socorro Sánchez Correa por su apoyo, confianza, comprensión, consejos, paciencia, tiempo, pero sobre todo por sus enseñanzas y su colaboración en la realización y término de esta tesis.

Al Dr. Juan Gerardo Ortiz Montiel por permitir llevar a cabo el proyecto en el laboratorio de cultivo de tejidos, su aportación, correcciones y tiempo.

Al Dr. Manuel Mandujano Piña por su aportación, tiempo, apoyo, correcciones y consejos.

A la M. en C. Antonia Trujillo Hernández y a la M. en C. Adriana Montserrat Espinoza González por su tiempo y correcciones.

DEDICATORIA

A mi mamá Reyna Romo, mi ejemplo de vida, porque sin ella no sería posible nada de lo que soy ni lo que ahora tengo, por su infinito amor, su fortaleza, su ayuda, sus consejos, su coraje para sacarme adelante, su paciencia, sus cuidados y su confianza.

“Lo logramos mami”.

A mi papá Antonio Rivera por su amor, sus palabras, sus consejos y su apoyo hoy y siempre.

A mi familia, todos y cada uno, porque a pesar de la distancia el saber que los tengo me hace más fuerte.

A mis amigos, pero sobre todo a Mariana, Mariel y Berenice por siempre estar ahí en las buenas pero sobre todo en las malas, escucharme, aconsejarme y apoyarme.

Y por supuesto a mi Wendy por ser el motorcito que me impulsa día a día para seguir y superarme, mi lucecita, porque esa sonrisa y esas ocurrencias le dan sentido a mi vida.

Y a mi Cuau porque a pesar de las adversidades nos hemos mantenido juntos, por la hermosa hija que tenemos, por su apoyo, confianza, colaboración e impulso en el término de esta tesis; por emprender el camino juntos, porque aunque no nos sea fácil somos capaces de lograrlo. Te amo hoy y siempre.

ÍNDICE

1.	Resumen.....	1
2.	Introducción	2
3.	Antecedentes.....	6
4.	Descripción de las especies de estudio.....	13
5.	Justificación.....	21
6.	Hipótesis.....	21
7.	Objetivos.....	22
8.	Material y métodos.....	23
9.	Resultados.....	27
9.2	Germinación de semillas.....	27
9.3	Inducción de la formación de plantas completas a partir de diferentes tratamientos hormonales.....	27
9.3.1	Número de brotes y raíces.....	28
9.3.2	Tamaño de brotes.....	30
9.3.3	Longitud de raíces.....	35
9.4	Análisis estadístico.....	40
10.	Discusión.....	43
11.	Conclusiones.....	47
12.	Recomendaciones.....	48
13.	Bibliografía.....	49

1. RESUMEN

México alberga una gran diversidad de cactáceas, aproximadamente 669 especies, de las cuales 518 son endémicas y por ello son vulnerables a la extinción, por lo que es necesario implementar formas de propagación; una de las más exitosas es el cultivo *in vitro*, en el cual los reguladores de crecimiento, especialmente las auxinas, juegan un papel muy importante.

En este trabajo se evaluó el efecto de las hormonas ácido indol acético y ácido indol butírico en concentraciones de 0, 1.0, 5.0 y 10 mg/l en la propagación *in vitro* de *Neobuxbaumia macrocephala*, *Pachycereus hollianus* y *Stenocereus pruinosus*. Se determinó el porcentaje de germinación de semillas y una vez obtenidas las plántulas de aproximadamente 5 cm de altura se cortaron en fracciones de 1 cm de grosor y se cultivaron en medio de cultivo MS adicionado con las hormonas y concentraciones mencionadas, los datos de brotes y raíces desarrollados fueron procesados mediante el análisis de varianza (ANOVA) y la comparación de medias con LSD con una $\alpha=0.05$ mediante el paquete estadístico SAS®.

La germinación tanto *in vitro* como *ex vitro* en todos los casos fue mayor del 93%. Aunque con el análisis estadístico se obtuvo un coeficiente de variación alto (mayor al 15%); sin embargo, *N. macrocephala* presentó los mejores resultados con 8 brotes de 2.7 cm en promedio y 61 raíces de 5.25 cm también en promedio por tratamiento. La especie *P. hollianus* presentó resultados intermedios con respecto a las otras dos especies con 5 brotes de 0.78 cm y 70 raíces de 0.78 cm en promedio. La especie *S. pruinosus* presentó los resultados más bajos con 3 brotes y 42 raíces, con un promedio de tamaño de 0.35 cm y de 4.8 cm respectivamente. Se obtuvieron brotes y raíces a partir de explantes de tallo en diferente cantidad y tamaño en cada especie y tratamiento hormonal, además de que la especie *N. macrocephala* fue la que presentó los mejores resultados.

2. INTRODUCCIÓN.

México alberga una gran diversidad de cactáceas, aproximadamente 669 especies, de las cuales 518 son endémicas¹. Esto representa la mayor variedad florística conocida para los países americanos (Arias, 1997).

Cactus es el nombre latino que deriva del vocablo griego *kaktos* que significa cardo. Con esta palabra se designa a las plantas que tienen espinas y tallos suculentos o jugosos, aunque no todas pertenecen a la familia botánica de las cactáceas (Arreola-Nava, 1997).

Desde la época prehispánica las cactáceas han sido fuente medicinal, alimenticia, elemento de construcción, ritual-mágico, ornamental y motivo de admiración por su belleza y su notable sobrevivencia en escasos niveles de agua ambiental. Sus formas, texturas y colores crean motivos extraordinarios por su belleza y originalidad debidas a la presencia de sus espinas, tallos carnosos, cutículas y flores (Arreola-Nava, 1997).

Las plantas de la familia Cactaceae son perennes, cuya vida dura de dos hasta cientos de años como en el caso de algunos individuos de *Echinocactus platyacanthus* a los que se les han calculado más de 500 años de vida. Algunas especies alcanzan su madurez a los dos o tres años, mientras que a otras especies les toma varios lustros (Arreola-Nava, 1997).

Las cactáceas son plantas dicotiledóneas, con un parénquima muy desarrollado para conservar agua y nutrientes en sus tallos y raíces, no presentan hojas, excepto las especies del género *Pereskia* (consideradas como las cactáceas más primitivas). Poseen hábitos muy diversos, la gran mayoría son terrestres, en general crecen solitarias aunque algunas forman colonias; por lo

¹ Contacto: biodiversidad@conabio.gob.mx | México 2009

general crecen erectos en forma perpendicular al suelo. Los tallos en las cactáceas conforman básicamente el cuerpo de la planta, engrosado por el desarrollo del parénquima, son verdes porque en ellos se concentra la actividad fotosintética y varían en forma, tamaño y ramificación (Arreola-Nava, 1997).

Existen alrededor de 170 especies de cactáceas columnares, de las cuales 80 se encuentran en México. Estas plantas son componentes principales de los bosques tropicales caducifolios y matorrales xerófilos de las zonas áridas y semiáridas, los cuales cubren cerca de dos tercios del territorio nacional. Varios trabajos arqueológicos han revelado que las cactáceas columnares fueron de los principales recursos utilizados por los humanos durante la prehistoria en Mesoamérica (Bravo-Hollis, 1978; Valiente-Banuet *et al.*, 2002).

En la actualidad las cactáceas columnares son de gran importancia debido a su amplia gama de usos, como el consumo de sus frutos ya que todos son comestibles y son utilizados como forraje, los tallos son utilizados como forraje y los de ciertas especies son comestibles, las semillas generalmente se consumen separadas de la pulpa, la madera de varias especies de cactáceas columnares gigantes se utiliza comúnmente en la construcción de techos y cercas de las casas campesinas tradicionales, algunas se utilizan como cercas vivas y como bordos de contención en terrazas; los tallos secos se utilizan como leña para calentar y preparar alimentos así como en hornos para la manufactura de cerámica tradicional. Las cactáceas columnares no solo constituyen especies clave en las comunidades bióticas en las zonas áridas y semiáridas, sino que además son recursos de un considerable potencial económico, hoy día cientos de comunidades rurales las utilizan para satisfacer sus necesidades de subsistencia y comercializan sus productos a escala local o regional; sin embargo, podrían tener importancia en mercados internacionales y su comercialización contribuiría a beneficiar la economía campesina (Casas, 2002).

Son diversas las causas que han hecho vulnerables a la extinción a varias especies de la familia de las cactáceas, entre ellas están la recolección por su valor ornamental, la rareza ya que existen muchos casos de endemismos, la perturbación o pérdida del hábitat causado por las actividades humanas, así como el lento crecimiento de las especies de esta familia. La sobre explotación de poblaciones naturales de cactáceas es una realidad que afecta los ecosistemas semiáridos de México; Hernández y Godínez (1994), consideran que 197 especies mexicanas de esta familia (35% del total), están amenazadas.

Para la protección de las especies mexicanas de cactáceas en peligro de extinción, endémicas, raras o con importancia económica es necesario desarrollar y/o aplicar técnicas de reproducción eficaces, una de las más exitosas es el cultivo *in vitro*, ya que permite la producción de muchos organismos a partir de una fracción de tejido proveniente de un solo individuo; además, utilizando el potencial de esta técnica se pueden mantener poblaciones enteras de especies raras, endémicas, con importancia económica o en peligro de extinción (Coca, 2003).

En el cultivo *in vitro* de plantas superiores, los reguladores de crecimiento especialmente las auxinas, juegan un papel importante; se puede decir que este es prácticamente imposible sin ellos, aunque esto depende del tipo de explante y especie vegetal. Las auxinas generalmente producen: elongación celular y expansión de los tejidos, división celular, formación de raíces adventicias, inhibición de la formación de vástagos axilares y adventicios y frecuentemente embriogénesis en los cultivos en suspensión (Pierik, 1990).

Las auxinas adicionadas al medio de cultivo en cantidades mínimas pueden estimular el crecimiento de las raíces, no obstante, en cantidades mayores, inhibe el crecimiento de las primarias, aunque puede promover la formación de nuevas secundarias. Esta hormona estimula el desarrollo de las adventicias y por esta razón se emplea comercialmente para estimular la formación de raíces en esquejes (García-Breijo *et al.*, 2006).

Por otra parte el ácido indol acético (AIA) es una auxina que participa en el mecanismo de regulación del crecimiento y en la elongación celular, Murashige (1974) describe el AIA como una fitohormona que incrementa la plasticidad de la pared celular y en combinación con las citocininas inducen morfogénesis en micropropagación; así mismo menciona que estimula el crecimiento generalizado de la planta, propiciando su alargamiento (Citado por: González, 2001). Regula las funciones en los tejidos vegetales, interviene en factores de juventud, retraso de la senescencia en hojas y frutos, promueve la dominancia apical, interviene en la biosíntesis de etileno y en el crecimiento de las plantas (González, 2001).

Otra auxina natural es el ácido indol-3-butírico (AIB), que se ha aislado de diversas especies vegetales donde puede encontrarse en forma libre o conjugada con otras auxinas. Se sintetiza a partir del AIA por alargamiento de la cadena lateral en una reacción catalizada por AIB sintasa que utiliza acetil colina A y ATP como cofactores (Barceló-Coll *et al.*, 2005). El AIB es usado en la propagación de tallos y esquejes de hoja, debido a su efecto de estimular la formación de raíces; por lo general se comercializa como “hormona de enraizamiento” combinada con una auxina sintética como el ácido naftalenacético (ANA), mezcladas con una sustancia inerte como polvos de talco (Hopkins y Hüner, 2009).

3. ANTECEDENTES

Los experimentos iniciales de hormonas vegetales en general y en particular de las auxinas se remonta a la obra de Charles Darwin y su hijo Francis en la última parte del siglo XIX, quienes estudiaron la tendencia de las semillas de *Phalaris canariensis* a girar hacia la luz que pasa a través de la ventana, fenómeno conocido como “fototropismo”. Darwin observó que los coleóptilos del pasto responden a iluminación unilateral, creciendo hacia la fuente de luz, y que sin embargo la curvatura no ocurre si la punta del coleóptilo ha sido removida o cubierta de la luz. Estos experimentos llevaron a otros fisiólogos vegetales a realizar una serie de experimentos, los cuales culminaron en el descubrimiento de la auxina, la primera hormona vegetal (Epstein y Ludwig-Müller, 1993).

El concepto de hormonas en plantas puede remontarse a las observaciones de Duhamel du Monceau en 1758 quien observó la formación de raíces en las inflamaciones que se producen por encima de las heridas alrededor de los tallos de plantas leñosas; para explicar esto y otros fenómenos parecidos en 1860 Julius Sachs postuló sustancias específicas formadoras de órganos en plantas (Hopkins, 1999).

Posterior a la publicación del libro de Darwin “*The Power of Movement in Plants*” en 1910 Boysen-Jensen demostró que estímulos pasan a través de bloques de agar, los cuales eran de naturaleza química (Epstein y Ludwig-Müller, 1993).

En 1918 Paal mostró que si el ápice era removido y reemplazado asimétricamente la curvatura ocurría aún en la oscuridad (Epstein y Ludwig-Müller, 1993).

La sustancia activa fue aislada satisfactoriamente en 1928 por F.W. Went; su trabajo fue particularmente significativo en dos aspectos, primero confirmó la

existencia de sustancias reguladoras en el ápice del coleóptilo y segundo desarrollo un medio para el aislamiento y el análisis cuantitativo de la sustancia activa. Debido a que Went usó coleóptilos de semillas de *Avena* su prueba es conocida como prueba de la curvatura de avena (Epstein y Ludwig-Müller, 1993).

En 1934 la hormona ácido indol-3-acético fue aislada por Kögl y Haagen-Smit de orina humana; al mismo tiempo se aisló de extractos de levadura y el año siguiente de *Rhizopus suinus* por Thimann. En 1946 fue extraída por de granos de maíz y después de esto ha sido encontrada para ser ubicada en plantas superiores (Epstein y Ludwig-Müller, 1993).

La hormona AIA fue la primera hormona vegetal usada para estimular el enraizamiento. Al mismo tiempo fue descubierta una nueva auxina "sintética", el ácido indol-3-butírico, el cual también promovía el enraizamiento y era más efectivo que el AIA (Hopkins, 1999).

El AIB es ahora usado comercialmente en todo el mundo para el enraizamiento de muchas especies de plantas. Durante los últimos 15 años el AIB ha sido identificada como una hormona natural, ya que ha sido encontrada en muchas especies de plantas, esto con ayuda de técnicas como cromatografía de gases-espectrometría de masas (Hopkins, 1999).

El AIB está presente en aproximadamente las mismas concentraciones o poco menores que el AIA en las plantas, las cuales varían a diferentes condiciones de crecimiento tales como el pH del medio, la intensidad de luz e incluso el volumen del frasco de cultivo (Hopkins, 1999).

Anicua y Rivas en 2000 realizaron la micropropagación y evaluación del status metabólico *in vitro* de tres especies de cactáceas (*Mammillaria bocasana*, *M. carmenae* y *Echinocactus grusonii*), donde evaluaron el efecto independiente de dos citocininas, la cinetina (KIN) y la bencilaminopurina (BAP) a las

concentraciones de 0.5, 1.0, 5.0 y 10 mg/l además de un grupo testigo; encontraron que los tratamientos con una rápida y extensa proliferación de brotes múltiples sobre los explantes fueron: para *M. bocasana* con KIN a la concentración 5.0 mg/l 15 brotes, con BAP a la concentración 5.0 mg/l 19 brotes; para *M. carmenae* con KIN a la concentración 10 mg/l 30 brotes, con BAP a la concentración 10 mg/l 22 brotes, mientras que la especie *E. grusonii* sólo presentó la generación de callo en todos los tratamientos, desarrollándose más rápido con KIN a las concentraciones 5.0 y 10 mg/l y con BAP a la concentración 1.0 mg/l. Los autores concluyeron que el desarrollo de brotes posiblemente fue causado por la activación de *auxinas endógenas* en el periodo de etiolación previo al que fueron sometidas las plantas *in vivo* antes de tomar los explantes para el cultivo *in vitro*.

Morales en 2000 indujo la germinación y el crecimiento de plántulas, así mismo realizó el cultivo *in vitro* de pitahaya *Hylocereus undatus*; en la etapa de germinación uso dos diferentes sustratos y agar, para el cultivo *in vitro* en el caso de la inducción de brotes utilizó dos tratamientos, en el primero adicionó KIN 1.0 mg/l y BAP 2.0 mg/l y al segundo adicionó KIN 5.0 mg/l, AIA 0.3 mg/l y hemisulfato de adenina; para la inducción de callo utilizó 2,4-D a las concentraciones 2.0, 4.0 y 8.0 mg/l con KIN a las concentraciones 2.0, 4.0 y 8.0 mg/l y BAP a las concentraciones 3.0 y 6.0 mg/l y ANA a las concentraciones 1.0 y 2.0 mg/l; donde obtuvo que el mayor porcentaje de germinación fue bajo riego continuo y que las mejores combinaciones fueron mejores las combinaciones de BAP 2.0 mg/l y K 1.0 mg/l, BAP 3.0 mg/l y NAA 1.0 mg/l, para formación de brote y callo respectivamente.

Rubluo *et al.* en 2002 analizaron respuestas morfogenéticas de *Mammillaria san-angelensis* Sánchez-Mejorada (Cactaceae) a la presencia de las auxinas AIA (1.14, 2.28 y 3.42 mg/l), ANA (1.07, 2.18, 3.22 mg/l), AIB (0.98, 1.96, 2.95 mg/l) y 2,4-D (0.90, 1.80, 2.71 mg/l) a largo plazo en cultivo *in vitro*, los autores encontraron que la potencialidad morfogenética se conserva y que la mejor

regeneración de la planta se observó en presencia de la hormona AIA a la concentración de 3.42 mg/l.

Choreno-Tapia *et. al* en 2002 realizaron un estudio sobre propagación *in vitro* de *Cephalocereus senilis* a partir de areolas, las cuales fueron sembradas en el medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) complementado con los reguladores del crecimiento ácido naftalenacético (ANA), 6-benciladenina (BA) y cinetina (KIN), solas y en diferentes combinaciones, en concentraciones de 0.0, 0.3, 1.0 y 3.0 mg/l en la forma siguiente: ANA: BA y ANA: K. Obtuvieron después de 21 días la activación de areolas en ANA: BA 3.0 mg/l; posteriormente a los 61 días, subcultivaron las plántulas fraccionándolas en tres partes (apical, media y basal); logrando después de 40 días, la mejor respuesta en número de brotes con plántulas fraccionadas consiguiendo hasta 11 brotes en promedio con una altura de 0.9 cm y un diámetro de 0.6 cm, con apariencia vigorosa y sana. Posteriormente, los brotes fueron transferidos a medio sin reguladores, en donde formaron raíz a los 30 días de la incubación.

Ordóñez en el 2003 realizó la propagación *in vitro* de *Mammillaria voburnensis*, utilizando plántulas que medían aproximadamente 1 cm, las cuales fueron sometidas a tratamientos con las hormonas BA/ANA a las concentraciones de 0.1/0, 1.0/0, 2.0/1.0, 0.1/0.01, 1.0/0.01, 1.0/1.0, 6.0/0.1 y 0/0 mg/l respectivamente, obteniendo que el tratamiento con BA/ANA a las concentraciones 0.1/0.01 mg/l respectivamente fue el óptimo, ya que indujo la formación de la mayor cantidad de brotes por explante, los cuales eran semiesféricos, de color verde, medían entre 0.3 y 0.4 cm de diámetro, al menos 0.4 cm de altura, con desarrollo externo de espinas radiales y centrales sobre las areolas y en la anatomía interna hubo diferenciación del sistema dérmico, fundamental y vascular.

Galván en el 2005 desarrolló una vía de propagación *in vitro* para *Neobuxbaumia tetetzo* a partir de areolas con fines de conservación *ex situ*. Utilizó

plántulas obtenidas de semillas germinadas *in vitro* y etioladas durante dos meses, de las que obtuvo explantes con 2 ó 3 areolas, los cuáles fueron cultivados en medio MS adicionado con las citocininas BAP o 2iP a concentraciones 0, 1.0, 5.0, 10 y 15 mg/l. Los resultados mostraron que la mayor proliferación fue con explantes no etiolados en el tratamiento con 2iP a la concentración 15 mg/l, donde se formaron en promedio hasta 15 brotes por explante; el 75% de enraizamiento de los brotes ocurrió utilizando medio MS libre de reguladores de crecimiento. Así mismo el índice de sobrevivencia para la fase de aclimatación después de 8 semanas fue del 89%. Concluyó que el la propagación *in vitro* de *N. tetetzo* es factible a gran escala y resulta de utilidad en proyectos de restauración para la reintroducción de la especie a su hábitat natural.

Díaz en el 2007 realizó la propagación *in vitro* de *Theolocactus rinconensis*, donde definió la técnica de desinfección de semillas y la mejor concentración citocinina/auxina para la formación de brotes, así como el establecimiento *ex vitro* de los mismos, donde a partir de plántulas de 0.5 a 2 cm de altura obtenidas a través de semillas germinadas asépticamente, se disectaron explantes apicales y laterales que se sembraron en medio MS adicionado con dos citocininas: bencilaminopurina y 6-[y,y-dimetilalilamino] purina (BA y 2iP) en diferentes concentraciones (0, 0.5, 1.0, 2.0 y 6.0 mg/l), solas o en combinación con la auxina ácido naftalenacético (ANA 0 y 0.1 mg/l); donde observó que los explantes apicales tanto en BA/ANA como 2iP/ANA no generaron brotes en la mayoría de los tratamientos; en cambio los explantes laterales presentaron mayor capacidad morfogenética y generaron por lo menos un brote en cada explante. El enraizamiento ocurrió espontáneamente entre los 3 y 6 meses, después de dos subcultivos en medio MS con 1.0 mg/l de carbón activado. EL 92% de los brotes enraizados sobrevivieron (318 brotes) al ser transferidos al suelo.

Zamora en el 2007 realizó la micropropagación de *Theolocactus bicolor* como estrategia para su conservación, donde explantes longitudinales de plántulas entre 0.5 y 1 cm de longitud germinadas *in vitro* fueron colocadas en

medio MS adicionado con la citocinina 6-bencilaminopurina (BA) en concentraciones de 0, 1.0 y 2.0 mg/l y la auxina ácido naftalenacético (ANA) en concentraciones de 0, 0.5 y 1.0 mg/l. Encontrando que los explantes en medio adicionado con BA/ANA a las concentraciones 2.0/0.5 mg/l respectivamente presentaron la mayor producción de brotes, seguidos de los tratamientos 0/0.5 y control; sin embargo, en el tratamiento con BA, del total de brotes que se desarrollaron, el 67% se hiperhidrataron, determinando que el tratamiento con ANA a la concentración de 0.5 mg/l fue el más adecuado, al obtener un promedio de 2.87 brotes por explante.

Azcona en el 2009 realizó la propagación *in vitro* de *Melocactus curvispinus subsp. Dawsonii* a través de la activación de areolas, donde sembró explantes de tallos jóvenes en medio B5 con 3% de sacarosa, 8.0 g/l de agar y 1.0, 2.0 y 3.0 mg/l de 6-bencilaminopurina (BAP) en combinación con 0.5 mg/l de ANA, encontró los mejores resultados en la combinación de 2.0 mg/l de BAP y 0.5 mg/l de ANA.

Balaguera-López *et al.* en el 2010 realizaron la propagación asexual de *Selenicereus megalanthus* Haw; observaron el efecto de cuatro concentraciones de ácido indolbutírico (AIB) (0, 1.5, 3.0 y 4.5 mg/l) y de dos tamaños de cladodio (40 ó 60 cm de altura) durante 90 días; evaluaron enraizamiento, número de raíces y brotes, longitud de raíces y brotes, masa fresca y seca de raíz y brotes; encontraron que la concentración 4.5 mg/l de la hormona AIB a las estacas de 60 cm arrojó los mejores resultados.

Lara en el 2010 realizó la micropropagación de *Aporocactus flagelliformis* utilizó explantes de tallos jóvenes de 3 a 5 cm de largo sembrados en medio MS 50% y polivinil-pirrolidona (PVP) 1% suplementado con concentraciones de ANA (0, 0.1, 0.2, 0.5 mg/l) y BA (0, 1.0, 2.0 y 3.0 mg/l), observó después de 60 días de inducción una organogénesis directa, con la formación de brotes en todos los tratamientos; fue el tratamiento suplementado con ANA/BA a las concentraciones 0.1/1.0 mg/l el que generó el mayor número de brotes por explante, los cuales

presentaron una morfología similar a la planta madre con una longitud promedio de 3 cm, seguido del tratamiento suplementado con ANA/BA a las concentraciones 0/2.0 mg/l con 7.3 brotes por explante.

Ruvalcaba-Ruiz *et al.* en 2010 realizaron la propagación *in vitro* de *Coryphantha retusa* con el objetivo de lograr la regeneración vía organogénesis directa; los tratamientos consistieron de medio MS suplementado con 6-bencilaminopurina (6-BAP) a las concentraciones 0.0, 1.0, 2.0, 3.0 mg/l y ácido naftalenacético (ANA) a las concentraciones 0.0, 0.5, 1.0 mg/l. Posterior a 60 días evaluaron la proliferación de brotes axilares vía organogénesis directa; sometieron los resultados a un análisis de varianza ($P < 0.05$) y compararon las medias con la prueba de rango múltiple de Duncan, donde observaron los valores más altos de brotes axilares con 2.0 mg/l de 6-BAP con 9 brotes en promedio; posteriormente las plántulas obtenidas las enraizaron *in vitro* en medio MS sin reguladores de crecimiento.

4. DESCRIPCIÓN DE LAS ESPECIES DE ESTUDIO



Neobuxbaumia macrocephala
(Cardón).

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Caryophyllales

Familia: Cactaceae

Subfamilia: Cactoideae

Tribu: Pachycereeae

Género: *Neobuxbaumia*

Especie: *N. macrocephala*

Figura 1. Ejemplar de la especie
Neobuxbaumia macrocephala.

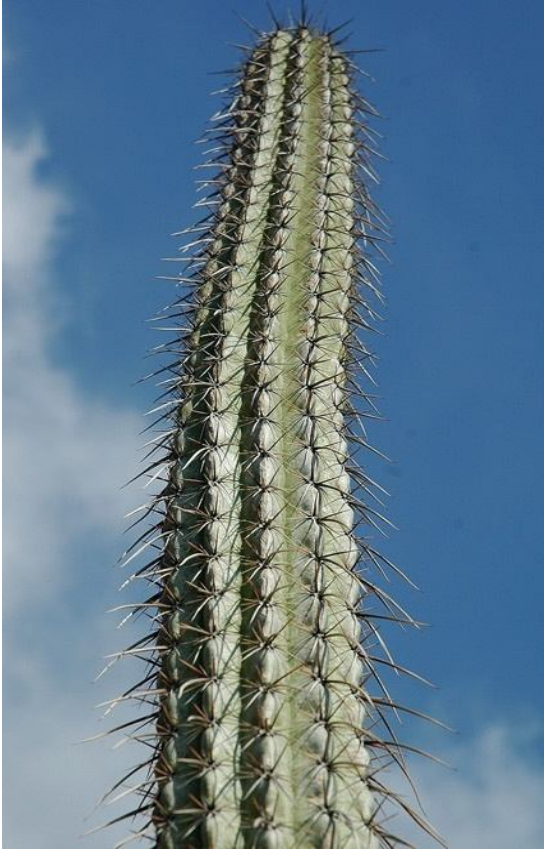
Plantas gigantes, más o menos ramificadas, de 7 a 15 m de alto, al principio columnares. *Tallo* simple o con ramas que emergen a diversas alturas pero no desde la base, color verde oscuro. *Tronco* leñoso muy sólido, de 30 a 60 cm de diámetro. Ramas erectas, de 7 a 12 m de longitud y 30 a 40 cm de diámetro. Costillas 17 a 26, bajas, obtusas. *Areolas* obovado-trianguares con fieltro y lana caduca; depresiones interareolares fuertemente marcadas. *Espinas* rígidas, al principio rojizas o rosadas, tornándose grises o negruzcas con la edad. *Espinas centrales* 1 a 3, una de ellas subulada, las demás aciculares hasta ligeramente subuladas; pseudocefalio terminal rojo en conjunto; areolas del pseudocefalio más grandes que los de la zona vegetativa, provistas de abundante fieltro amarillo y muy abundante lana amarillenta, con cerdas blanco rosadas translúcidas y más de 30 espinas setosas, rojizas. *Flores* nocturnas, cilindro-infundibuliforme-

campanuladas, incluidas en el pseudocefalio, nacen en corona cerca del ápice, de 42 a 52 mm de longitud, diámetro periantal de la flor abierta 21 a 28 mm; pericarpelo globoso de 12 a 16 mm de largo y 10 a 12 mm de diámetro, cubierto de podarios imbricados pequeños, tan largos como anchos, algo aplanados, provistos de escamas anchamente triangulares, de margen cartáceo-eroso, sin epipodarios o hipopodarios, color moreno purpúreo, axilas de las escamas con areolas generalmente glabras hasta la antesis, con lana blanca y setosas retorcidas, color rojizo amarillento; tubo receptacular angostamente cilíndrico, de 26 a 35 mm de largo, con podarios decurrentes no muy largos ni anchos, provistos de escamas algo carnosas, anchamente triangulares, casi orbiculares, con margen ciliado, axilas desnudas; segmentos exteriores del perianto angostamente oblanceolados, algo carnosos, con margen eroso y ápice mucronado, de 8 mm de largo y 5 a 6 mm de ancho, color rojo purpúreo, reflejados en la antesis; segmentos interiores del perianto, muy suaves, como de 10 mm de largo y 3 a 4 mm de ancho, blancos con la punta escarlata y línea central ligeramente purpúrea, reflejados en la antesis; estambres numerosos, más o menos de la misma longitud, filamentos delgados de 8 mm de largo, color amarillo pálido con tinte rosa, anteras amarillas; cámara nectarial algo abierta, de 13 mm de largo y 10 mm de ancho, color castaño claro; estilo de 20 a 22 mm de largo, color crema rosado, lóbulos del estigma 7 a 9, color crema; cavidad del ovario de 7 mm de longitud; óvulos numerosos en funículos verdaderamente ramificados. *Fruto* globoso de 2 cm de longitud por 18 mm de diámetro, cubierto de escamas gruesas, imbricadas, obovadas, hasta de 8 mm de largo y 4 mm de ancho, apiculadas, margen cartáceo-eroso, color rojo púrpura intenso; axilas de las escamas con abundante lana blanca y algunas cerdas semirígidas, retorcidas, amarillo rojizas, hasta de 5 mm de largo; pulpa blanca no jugosa; dehiscencia irregular en forma de estrella. *Semillas* oblicuamente reniformes, de menos de 2.5 mm de largo; testa moreno oscura casi negra, brillante, lisa, con ornamentación celular; hilo lateral subbasal, micrópilo incluido. El nombre específico alude al pseudocefalio apical (Bravo-Hollis, 1978).

Distribución: En el Estado de Puebla donde se le conoce únicamente en dos localidades, la primera en el Valle de Tehuacán, en la parte baja de las estribaciones de la sierra de Zongolica y de la sierra de La Granja; una colonia muy grande se encuentra en el cerro de Tochapa; la segunda población se encuentra en el Valle de Zapotitlán de las Salinas [18° 19' 52.4" N, 97° 28' 11.29" O] cerca de las márgenes del río Quiotepec, hasta cerca de Acatepec. Crece en suelos calizos, generalmente en laderas de mucha pendiente, formando parte de la selva baja caducifolia (Bravo-Hollis, 1978).

Florece en los meses de Marzo a Julio. Sus flores son polinizadas por murciélagos y sus semillas son dispersadas por aves (Arias-Toledo *et al.*, 2001).

Importancia: Es endémica del Estado de Puebla y es propagada con fines de reforestación y como planta ornamental (Bravo Hollis, 1978 y Arias-Toledo *et al.*, 2001).



***Pachycereus hollianus* (Acompes o baboso).**

Reino: [Plantae](#)

División: [Magnoliophyta](#)

Clase: [Magnoliopsida](#)

Orden: Caryophyllales

Familia: Cactaceae

Subfamilia: Cactoideae

Tribu: Pachycereeae

Género: *Pachycereus*

Especie: *P. hollianus*

Figura 2. Ejemplar de la especie
Pachycereus hollianus.

Plantas arbustivas con tallos simples o poco ramificados que alcanzan 4 y 5 m de altura. *Tallos* con ramificaciones desde la base, o a distintas alturas, delgados, de 4 a 6 cm de diámetro, de color verde oscuro. *Costillas* 8 a 14 agudas. *Areolas* distantes entre sí 1 a 3 cm casi circulares de 1 cm de diámetro, algunas con fieltro blanco grisáceo. *Espinas radiales* 12 a 14, de tamaño desigual, generalmente 1 a 3.5 cm largo, delgadas, grisáceas; a veces existen algunas espinas adicionales muy pequeñas. *Espinas centrales* 3 a 5, aplanadas, con la base bulbosa, de 3 a 5 y hasta 10 cm de longitud, la más larga dirigida hacia abajo, al principio rojizas, después de color gris o casi negras. *Flores* en el ápice de los tallos, diurnas, anchamente tubular- campanuladas, de 7 a 10 cm de longitud y 3 a 3.5 cm de diámetro; pericarpelo y tubo receptacular verdoso, con numerosas escamas pequeñas, triangulares, de color café, con el ápice terminado en una

espinita, en sus axilas hay lana blanca, cerdas largas y pelos tortuosos, blancos; limbo corto; segmento exteriores del perianto moreno-verdoso, ciliados y acuminados; segmentos interiores color blanco marfil, brillantes, ciliados y acuminados; estambres numerosos; filamentos blancos; anteras color blanco amarillento; estilo grueso más corto que los estambres; lóbulos del estigma 16 a 18, color crema, largos, papilosos. *Fruto* ovoide, 6 a 8 cm de largo, al principio moreno verdoso, después moreno rojizo, con numerosas areolas provistas de espinas suaves y delgadas y de pelos cerdosos blancos; las areolas se desprenden cuando el fruto madura; la pulpa del fruto es de color púrpura. *Semillas* de 2 a 3 mm de largo, testa negra y brillante con puntuaciones pequeñas, hilo amplio. Florece en julio y agosto (Bravo-Hollis, 1978).

Distribución: Estado de Puebla. Es abundante en Zapotitlán de las Salinas, cerca de Tehuacán. La planta se utiliza para formar setos vivos. El fruto es comestible, de sabor dulce (Arias-Toledo *et al.*, 2001).

Esta especie es interesante en sistemática porque Britton y Rose la escogieron como especie tipo para erigir el género *Lemaireocereus*, género que fue invalidado por Buxbaum (1961) cuando hizo la revisión de la tribu *Pachycereus*, pues tiene, entre otras semejanzas, el pericarpelo y el tubo receptacular muy gruesos y revestidos de escamas acresentes en toda su extensión, cuyas axilas están provistas de areolas que llevan lana abundante y cerdas; las semillas corresponden también a las de *Pachycereus*, pues el hilo es basal, ancho e incluye el micrópilo, la testa es negra y más o menos brillante y el embrión es curvo. EL fruto de esta especie difiere, sin embargo, del de las otras especies de *Pachycereus* en que es carnosos como el de las especies de *Lemaireocereus* Britt. *Et* Rose; este carácter sin embargo, no permite diferenciar géneros ya que como dice Buxbaum, frutos carnosos y secos pueden encontrarse también en *Opuntia* y *Ferocactus* (Bravo-Hollis, 1978).

Crece en planicies en donde forma colonias de mediano tamaño pero muy compactas, debido a que esta especie se propaga de manera vegetativa debido a que los tallos caídos forman raíces fácilmente (Arias-Toledo *et al.*, 2001).

Importancia: Sus frutos son consumidos por una gran variedad de aves, las cuales dispersan las semillas; son comestibles como fruta de temporada, además de que se utilizan para preparar aguas frescas. Su madera, conocida como “calehual” se usa para la construcción de cabañas, corrales y almacenes de granos. Su leña es muy apreciada por los lugareños quienes la usan como combustible (Arias-Toledo *et al.*, 2001).



***Stenocereus pruinosus* (pitayo y pitayo de mayo).**

Reino: [Plantae](#)

División: [Magnoliophyta](#)

Clase: [Magnoliopsida](#)

Orden: Caryophyllales

Familia: Cactaceae

Subfamilia: Cactoideae

Tribu: Pachycereeae

Género: *Stenocereus*

Especie: *S. pruinosus*

Figura 3. Ejemplar de la especie
Stenocereus pruinosus.

Arborescente, con tronco bien definido, de 4 a 5 m de alto, ramoso. *Ramas* de 8 a 10 cm de diámetro, de color verde oscuro, hacia la extremidad de las ramas azulado, con una pruinosidad blanquecina. *Costillas* 5 a 6 (8) prominentes agudas, algo onduladas. *Areolas* distantes entre sí 3 a 4 cm, grandes, 8 a 10 mm de diámetro, circulares, provistas de fieltro grisáceo claro. *Espinas radiales* 5 a 7 (8) de 1 a 2 cm de largo, radiadas, subuladas, al principio amarillentas, después grises con la punta oscura. *Espinas centrales* 1 a 4, grises, de 2 a 3 cm de longitud. *Flores* infundibuliformes, de 9 cm de longitud, con tubo receptacular largo; escamas y segmentos exteriores del perianto de color moreno verdoso; segmentos interiores del perianto de color blanco, más largos y delgados que los exteriores; pericarpelo con numerosos podarios pequeños que llevan escamas con areolas provistas de lana corta. *Fruto* ovoide, de 5 a 8 cm de largo, de color variable, rojo púrpura, anaranjado verdoso, con pulpa carnosa, del mismo color

que el pericarpelo; las areolas grandes, lanosas y espinosas de que esta proviso se desprenden con facilidad cuando el fruto madura. Semillas pequeñas de 2 a 2.5 mm de largo, y 1.8 mm de ancho; amplio hilo basal; testa negra con gruesas puntuaciones (Bravo-Hollis, 1978).

Distribución: Estados de Tamaulipas, Veracruz, Puebla, Guerrero, Oaxaca y Chiapas. Crece en estado silvestre y se cultiva en diversos poblados de las mixtecas. Se ha señalado en Oaxaca, de Totolapan, Tequisistlán, Mitla, Ixtlán de Juárez, distintos lugares de las mixtecas altas, Huajapan de León; en Puebla, en el cañón del río Atoyac, en “cuajiotales”, y en los alrededores de Tehuacán; en Guerrero, en el Cañón del Zopilote; en Chiapas, en la Hacienda de la Providencia, y también cerca de Tula, Tamaulipas y Río Verde, San Luis Potosí (Bravo-Hollis, 1978).

Existen diferentes variedades hortícolas que se distinguen por la forma y el color de los frutos a los cuales se les da, como a la especie anterior, el nombre de “pitayas”. La fructificación se produce en mayo y en septiembre (Bravo-Hollis, 1978).

Importancia: La población de Guajolotitlán, Oaxaca, cercana a Huajuapán de León, produce para el mercado diferentes variedades de esta planta, debido a que las variedades del fruto son muy agradables, en la época de fructificación éstos se encuentran en los mercados regionales, por lo que su producción debería incrementarse, pudiendo ser una fuente de recursos económicos para esas poblaciones (Bravo-Hollis, 1978).

5. JUSTIFICACIÓN

Las especies de cactáceas endémicas son únicas en sus requerimientos biológicos y ecológicos, esta singularidad está reflejada en tener una especiación limitada, área de distribución restringida así como hábitat y microclima específicos; desde el punto de vista ecológico y evolutivo las cactáceas tienen un alto valor para la conservación, ya que la extinción de cualquier especie endémica traería consigo la pérdida en la diversidad genética y los posibles beneficios que el hombre pudiera recibir de éstas (Lebgue-Keleng *et al.*, 2011). Así mismo el uso irracional de las cactáceas de importancia comercial como fuente de alimento, construcción, leña y ornamentales pone en riesgo la existencia de las especies de esta familia (Alanís y Velazco, 2008); por lo que el presente trabajo pretendió aplicar nuevos procedimientos de micropropagación, que sirvan como instrumento para facilitar su conservación *ex situ*, para mantener colecciones vivas que podrían actuar como reservorios de germoplasma, así como su reingreso al hábitat natural en proyectos de restauración de zonas perturbadas, e incluso su manejo con fines ornamentales.

6. HIPÓTESIS

El cultivo *in vitro* ha demostrado ser efectivo para la propagación de algunas especies de cactáceas. En la acción sobre la morfogénesis es muy importante que exista un equilibrio auxina/citocinina, pues la auxina induce diferenciación de la raíz y la citocinina diferenciación del tallo; es por ello que normalmente se aplica una citocinina con una auxina. Por lo que se propone hacer uso de las auxinas AIA y AIB sobre explantes de tallo de las cactáceas columnares *Neobuxbaumia macrocephala*, *Pachycereus hollianus* y *Stenocereus pruinosus* para iniciar el desarrollo de raíz y que esto permita la vida del explante como brote o plántula en función de que en este órgano se sintetizan citocininas, que permitirán el desarrollo completo de la plántula coayuvando a su crecimiento y desarrollo.

7. OBJETIVOS

GENERAL

- Evaluar el efecto de la aplicación de auxinas (AIA y AIB) en la propagación *in vitro* de tres especies de cactáceas columnares a partir de plántulas obtenidas de semilla para inducir la formación de raíces en los explantes para favorecer su mantenimiento y la posterior inducción de brotes.

PARTICULARES

- Obtener plántulas a partir de semillas de *Neobuxbaumia macrocephala*, *Pachycereus hollianus* y *Stenocereus pruinosus*.
- Determinar la formación de raíces y brotes mediante la aplicación de las auxinas AIA y AIB a concentraciones 0, 1.0, 5.0 y 10 mg/l, sobre los explantes de *Neobuxbaumia macrocephala*, *Pachycereus hollianus* y *Stenocereus pruinosus*.

8. MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Las semillas fueron obtenidas de la colección del Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales de la Unidad de Morfología y Función de la FES Iztacala. Se colectaron en el municipio de Zapotitlán de las Salinas, ubicado al sureste del estado de Puebla, México (97°28'28" W - 18°19'55" N), un año antes de realizar este estudio. Se almacenaron en frascos de plástico transparente a temperatura ambiente.

Preparación del sustrato

Se mezcló tierra negra y tezontle en proporción 1:1, esta mezcla se tamizó a una apertura de malla de 0.5 cm y se desinfectó por calor en una charola colocándola al fuego durante 20 o 30 minutos la cual se revolvió periódicamente y en un horno de microondas a potencia alta turnando 2 minutos de cocción por 1 minuto de reposo hasta completar 5 minutos.

Germinación de semillas

- *Ex vitro:*

Se desinfectaron 100 semillas de cada especie, para ello se colocaron en bolsas de gasa de 2x2 cm y se sumergieron en hipoclorito de sodio al 10% durante 10 minutos, se enjuagaron en tres ocasiones con agua destilada estéril y se introdujeron en un recipiente con agua a $50 \pm 1^\circ\text{C}$, durante 3 minutos; transcurrido este tiempo, se enfriaron extendiéndose en una charola con papel absorbente y se realizaron riegos periódicos. Las semillas se colocaron en una charola a una distancia de 1 cm de separación, sobre una capa de sustrato de 2 cm, se cubrieron con una capa de sustrato de 0.5 cm de profundidad con el fin de detectar la germinación y facilitar su extracción para el trasplante.

- *In vitro:*

100 Semillas de cada especie se desinfectaron sumergiéndolas en 60 ml de hipoclorito de sodio al 10% durante 10 minutos, se enjuagaron en cuatro ocasiones con agua destilada estéril y se introdujeron en un recipiente con agua a $50 \pm 1^\circ\text{C}$, durante 3 minutos; transcurrido este tiempo, se enfriaron extendiéndose en una charola con papel absorbente se realizaron riegos periódicos, se colocaron dentro de cajas Petri que contenían agar al 2% previamente esterilizado. Las semillas de las cajas se mantuvieron en una cámara de crecimiento a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ con fotoperiodo de 16 horas con intensidad de luz de $150 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$

Se registró el número de plántulas de cada especie obtenidas, para determinar porcentaje de germinación a los 20 días.

Cultivo de plantas completas

- *Ex vitro:*

Una vez germinadas las semillas y que las plántulas alcanzaron un tamaño de entre 4 y 5 cm se trasplantaron a macetas de plástico con capacidad de 200 g, a las cuales se les agregó el sustrato previamente preparado; se mantuvieron en condiciones de invernadero. Las plantas se regaron cada 3 días para mantener la humedad del sustrato constante.

Cuando las plantas alcanzaban tamaños superiores se trasplantaban a macetas de plástico con mayor capacidad, y se les agregaba mayor cantidad de sustrato.

- *In vitro:*

Una vez obtenidas las plantas se transfirieron a frascos de vidrio que contenían 20 ml de medio de cultivo Murashige y Skoog (1962) adicionado con tiamina (4 mg/l), mioinocitol (100 mg/l), sacarosa (30 g/l) y agar (7g/l), a pH de 5.7

± 0.2 ; y se mantuvieron a una temperatura de 25 ± 2 °C y fotoperiodo de 16 horas a una intensidad de luz de $150 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$.

El medio de cultivo se cambió cada 4 meses, para mantener el abastecimiento de nutrientes y humedad constantes.

Inducción de la formación de plantas completas a partir de diferentes tratamientos hormonales

- Preparación de medios de cultivo.

Se utilizaron frascos con capacidad de 75 ml a los cuales se les agregaron 20 ml de medio de cultivo MS con tiamina (4 mg/l), mioinocitol (100 mg/l), sacarosa (30 g/l), agar (7 g/l), adicionado con las hormonas AIA y AIB a concentraciones 0, 1.0, 5.0 y 10 mg/l a pH de 5.7 ± 0.2 . Se utilizaron 4 frascos por concentración de cada hormona.

- Obtención de explantes.

A las plantas seleccionadas obtenidas *ex vitro* se les cortó la raíz, se desinfectaron sumergiéndolas en una mezcla de hipoclorito de sodio al 10% y 0.5 ml de tween 20 durante 10 minutos y se enjuagaron 4 veces con agua destilada estéril, posteriormente se sumergieron en etanol al 96% durante 1 minuto, se enjuagaron 4 veces con agua destilada estéril. Posteriormente se realizaron cortes transversales para obtener fracciones de aproximadamente 1 cm de alto (que tuvieron como mínimo 3 areolas en el explante). Las plantas obtenidas *in vitro* se fragmentaron en la misma proporción sin desinfectar.

- Tratamientos.

Una vez obtenidos los explantes se colocaron sobre el medio de cultivo previamente preparado (un explante por frasco), con 4 repeticiones por tratamiento, se incubaron a una temperatura de 25 ± 2 °C y fotoperiodo de 16 horas con intensidad de luz de $150 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}^{-1}$.

Transcurridos 2 meses de tratamiento, se registró el número y longitud de las raíces así como el número y tamaño de brotes que se desarrollaron en cada uno, los datos obtenidos de longitud de raíces y tamaño de brotes fueron procesados mediante el análisis de varianza y comparación de medias por LSD con $\alpha=0.05$ con el paquete estadístico SAS®.

9. RESULTADOS

9.2 Germinación de semillas

En las tres especies usadas en este trabajo se obtuvieron porcentajes de germinación de entre el 93 y el 99%, como se observa en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Porcentaje de germinación de las especies *N. macrocephala*, *P. hollianus* y *S. pruinosus* a los 20 días.

Especies	Germinación %	
	<i>in vitro</i>	<i>ex vitro</i>
<i>N. macrocephala</i>	98	99
<i>P. hollianus</i>	95	93
<i>S. pruinosus</i>	96	97

Las semillas de las tres especies presentaron prácticamente los mismos porcentajes de germinación tanto *in vitro* como *ex vitro*.

9.3 Inducción de la formación de plantas completas a partir de diferentes tratamientos hormonales

Se consideró como planta completa al explante en el que se desarrollaron tanto raíces como brotes, ya que éstos cuentan con una mayor probabilidad de sobrevivir al trasplante de las condiciones *in vitro* a las condiciones de invernadero y lograr un crecimiento saludable, esto debido a que tienen las estructuras básicas para poder generar su propio alimento (Ruth, 1985).

Tanto el tamaño de raíces como el de los brotes presentaron una alta variación en todos los tratamientos, por ejemplo en los explantes de la especie *N. macrocephala* expuestos al tratamiento con AIA a la concentración de 10 mg/l (Figura 4) se formaron raíces de longitudes entre 0.43 y 10.8 cm con un coeficiente de variación del 281.35% (Cuadro 8).

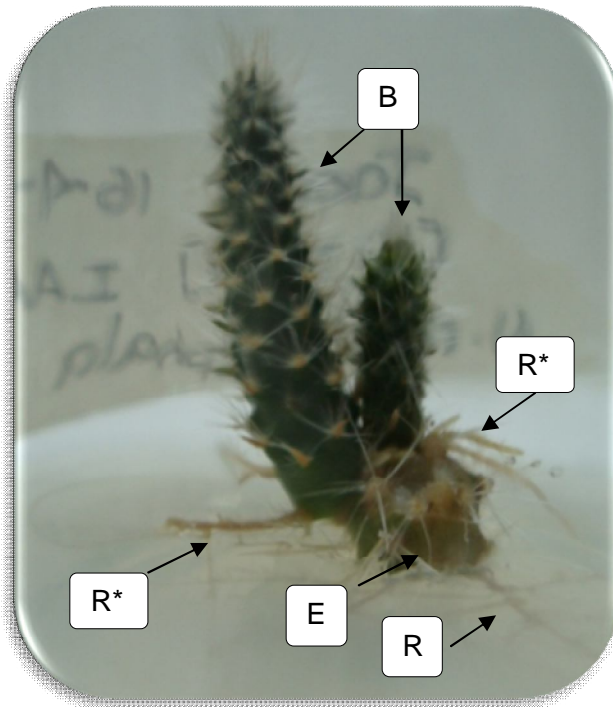


Figura 4. Explante con brotes y raíces de la especie *Neobuxbaumia macrocephala* a la concentración 10 mg/l de la hormona AIA. E= explante; B= brote; R=raíces; R*=raíces que salen del brote.

Nota: En la imagen podemos observar la formación de pequeñas hojas en los brotes (datos no evaluados).

9.3.1 Número de brotes y raíces

Los explantes de la especie *N. macrocephala* desarrollaron el mayor número de brotes en la concentración de 1.0 mg/l de la hormona AIA (8 brotes totales), mientras que el mayor número de raíces se registró en la concentración 10 mg/l de la hormona AIB con 61 raíces (Cuadro 2).

Cuadro 2. Número total de brotes y raíces de la especie *N. macrocephala* a las distintas concentraciones de las hormonas AIA y AIB.

Concentración mg/l	Hormona	Número total de brotes	Número total de raíces
Control	AIA*	2/4	29/4
	AIB**	4/4	9/4
1.0	AIA*	8/4	35/4
	AIB**	4/4	23/4
5.0	AIA*	5/4	21/4
	AIB**	7/4	30/4
10	AIA*	6/4	34/4
	AIB**	6/4	61/4

*AIA= ácido indol acético; **AIB= ácido indol butírico

La especie *P. hollianus* presentó el mayor número de brotes en las concentraciones 1.0 y 10 mg/l de la hormona AIB con 5 brotes y el mayor número de raíces en la concentración 10 mg/l de la hormona AIA con 70 raíces (Cuadro 3).

Cuadro 3. Número total de brotes y raíces de la especie *P. hollianus* a las distintas concentraciones de las hormonas AIA y AIB.

Concentración mg/l	Hormona	Número total de brotes	Número total de raíces
Control	AIA*	3/4	6/4
	AIB**	4/4	6/4
1.0	AIA*	4/4	28/4
	AIB**	5/4	11/4
5.0	AIA*	1/4	36/4
	AIB**	4/4	25/4
10	AIA*	0/4	70/4
	AIB**	5/4	6/4

*AIA= ácido indol acético; **AIB= ácido indol butírico

La especie *S. pruinosus* presentó el mayor número de brotes en la concentración 1.0 mg/l de la concentración AIB con 3 brotes y el mayor número de

raíces en las concentraciones 5.0 y 10 mg/l de la hormona AIB con 42 raíces (Cuadro 4).

Cuadro 4. Número total de brotes y raíces de la especie *S. pruinosus* a las distintas concentraciones de las hormonas AIA y AIB con n= 4.

Concentración mg/l	Hormona	Número total de brotes	Número total de raíces
Control	AIA*	2/4	8/4
	AIB**	2/4	8/4
1.0	AIA*	0/4	10/4
	AIB**	3/4	17/4
5.0	AIA*	0/4	7/4
	AIB**	1/4	42/4
10	AIA*	0/4	16/4
	AIB**	0/4	42/4

*AIA= ácido indol acético;** AIB= ácido indol butírico

9.3.2 Tamaño de brotes

La generación de brotes se presentó sin previa inducción de formación de callos es decir, vía organogénesis directa de las zonas meristemáticas (areolas) de los explantes en todos los tratamientos (Figura 5).

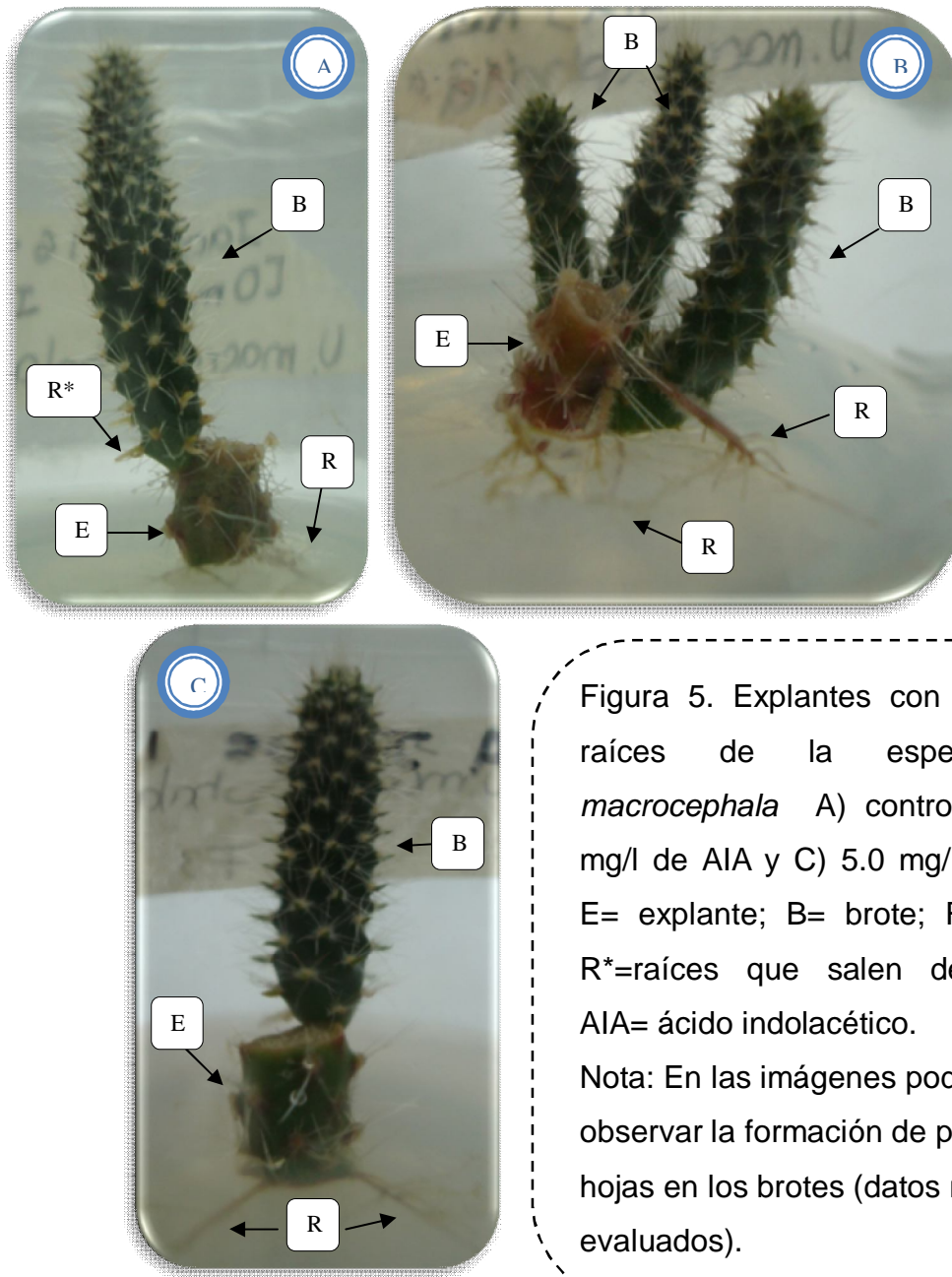
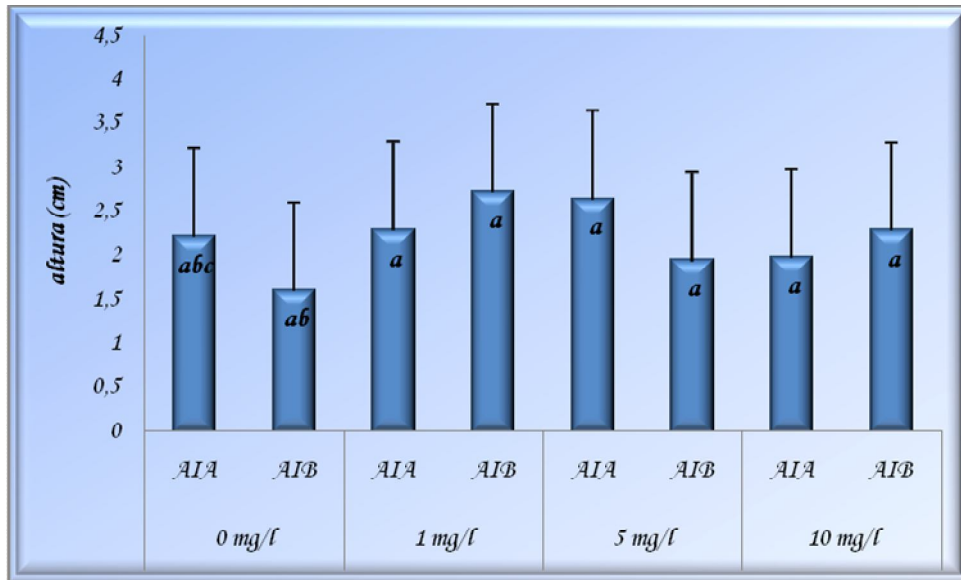


Figura 5. Explantes con brotes y raíces de la especie *N. macrocephala* A) control, B) 1.0 mg/l de AIA y C) 5.0 mg/l de AIA. E= explante; B= brote; R=raíces; R*=raíces que salen del brote; AIA= ácido indolacético.

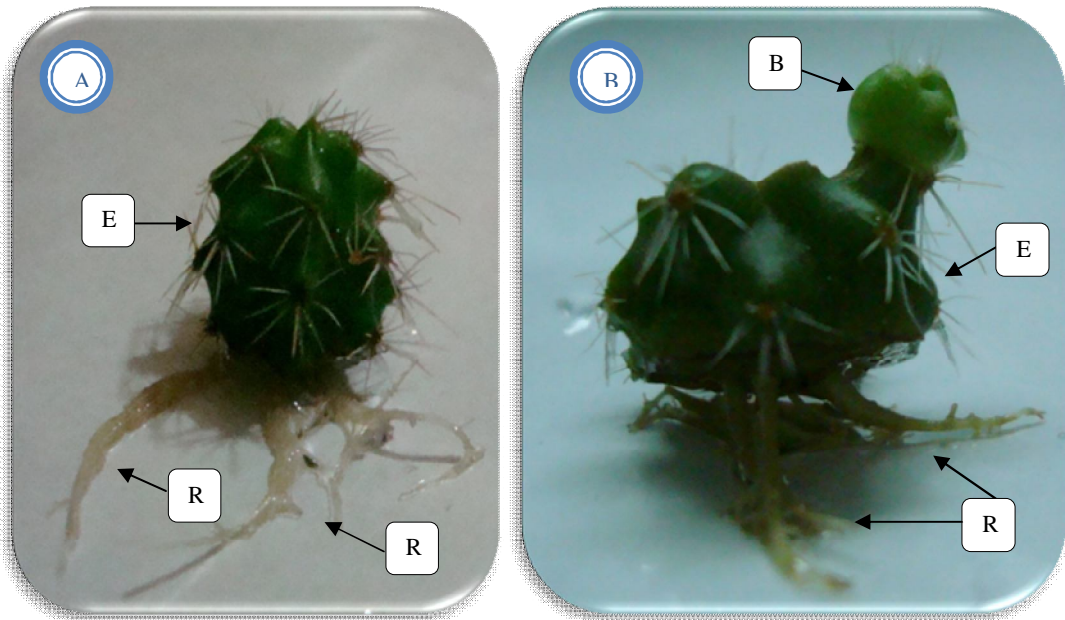
Nota: En las imágenes podemos observar la formación de pequeñas hojas en los brotes (datos no evaluados).

En *N. macrocephala* se desarrollaron los brotes con mayor tamaño en la concentración de 1.0 mg/l de la hormona AIB con un promedio de 2.7 cm (Figura 8A), mientras que los de menor tamaño se desarrollaron en el control (Figura 5A) con un promedio de 1.59 cm (Cuadro 5).



Cuadro 5. Promedio de la altura (cm) de los brotes formados en los explantes de *Neobuxbaumia macrocephala* con n= 4 y error estándar.

En *P. hollianus* se desarrollaron los brotes más grandes en la concentración 5.0 mg/l de la hormona AIB (Figura 9B) con un promedio de 0.78 cm y los de menor tamaño se desarrollaron en la concentración 10 mg/l de la hormona AIA (Figura 6D) con un promedio de 0 cm (Cuadro 6).



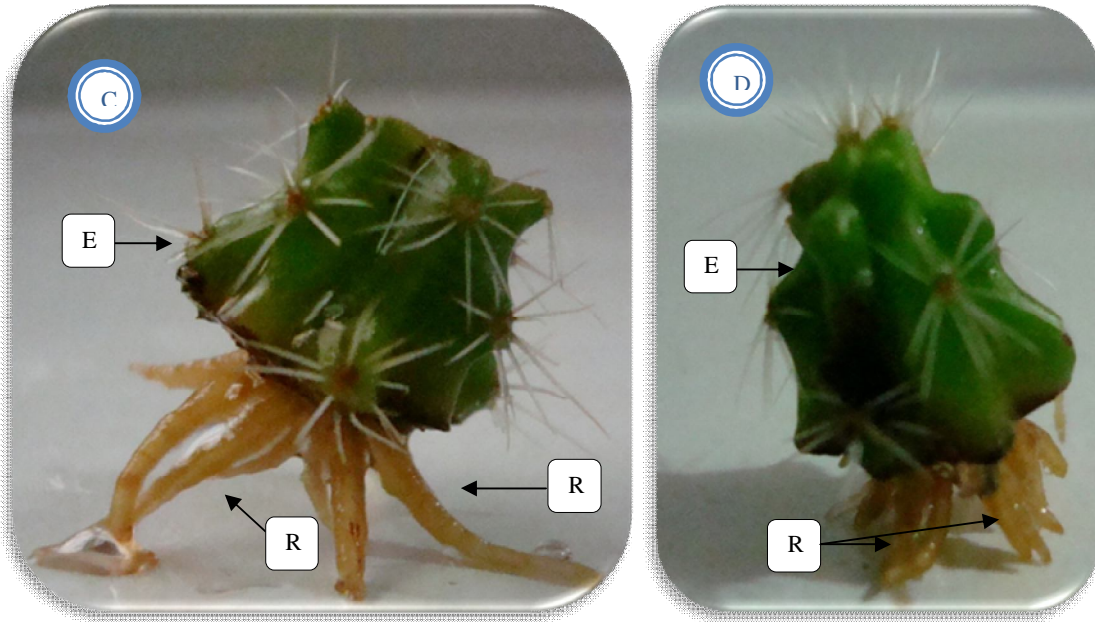
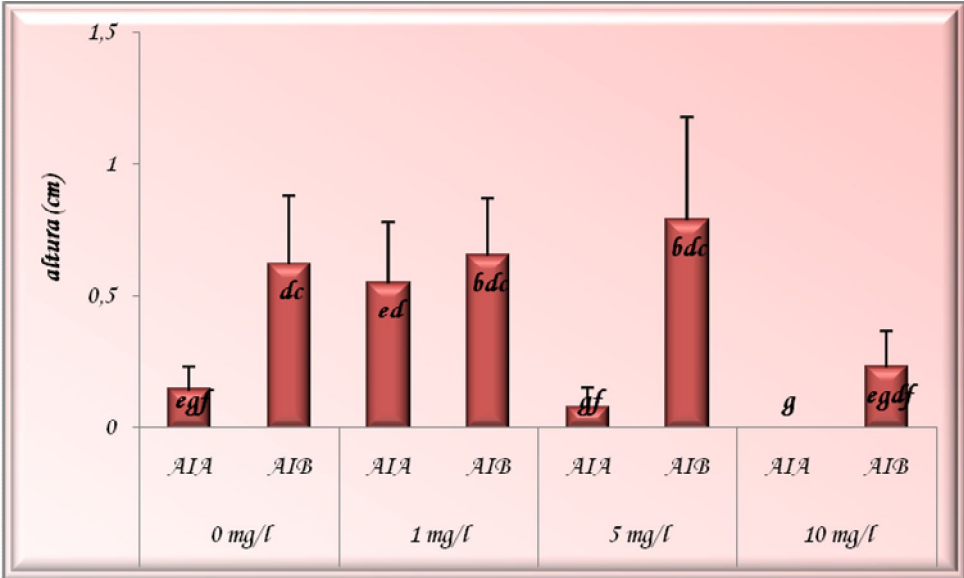


Figura 6. Explantes con brotes y raíces de la especie *P. hollianus* A) control, B) 1.0 mg/l de AIA, C) 5.0 mg/l de AIA y D) 10 mg/l de AIA. E= explante; B= brote; R=raíces; AIA= ácido indolacético.
 Nota: En las imágenes podemos observar raíces más gruesas que en las otras especies (datos no evaluados).



Cuadro 6. Promedio de la altura (cm) de los brotes obtenidos de *Pachycereus hollianus* con n=4 y error estándar.

En *S. pruinosus* se presentaron los brotes de mayor tamaño en el control (Figura 7A) con un promedio de 0.35 cm, mientras que en los tratamientos de 1.0 mg/l de la hormona AIA, 5.0 mg/l de la hormona AIA (Figura 7A) y 10 mg/l de las hormonas AIA y AIB (Figuras 7C y 10C), no desarrollaron brotes (Cuadro 7).

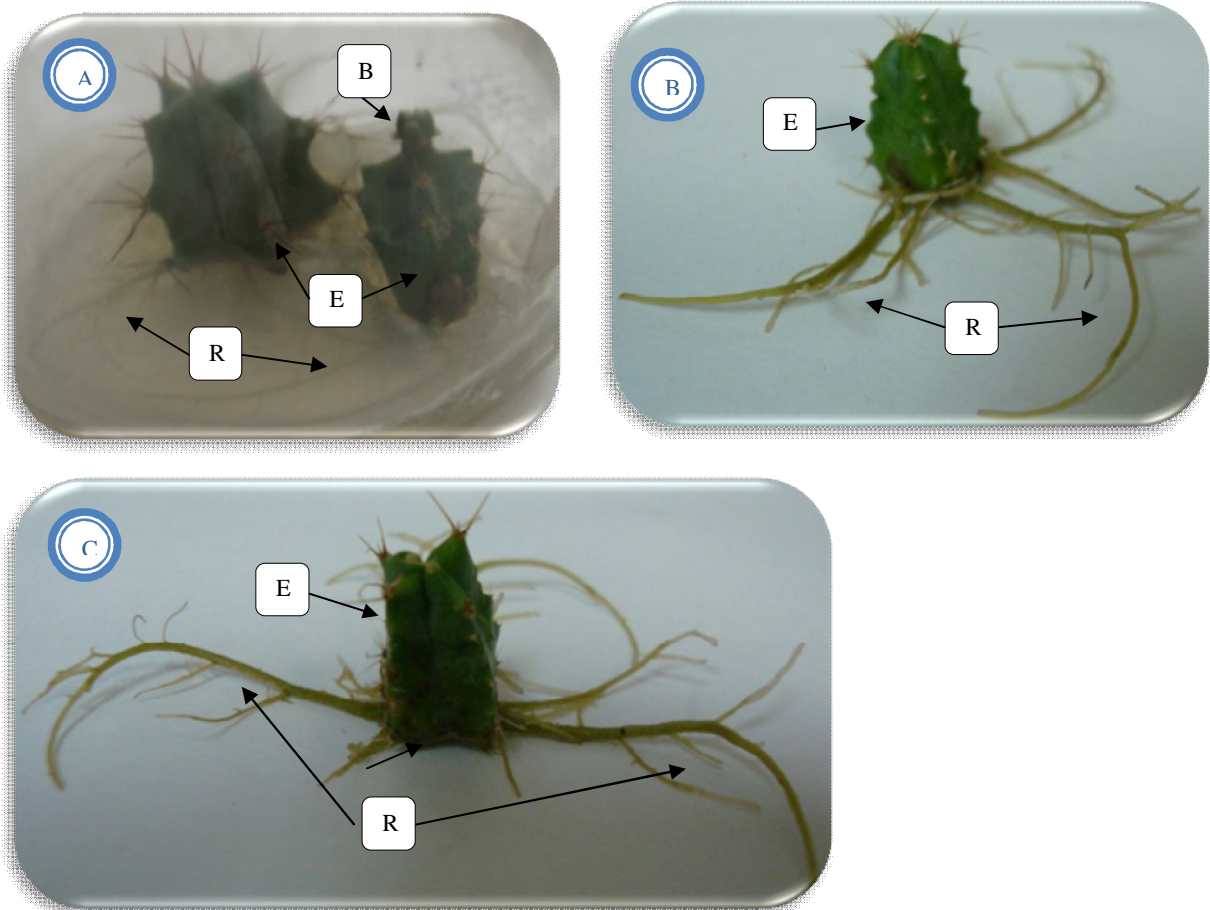
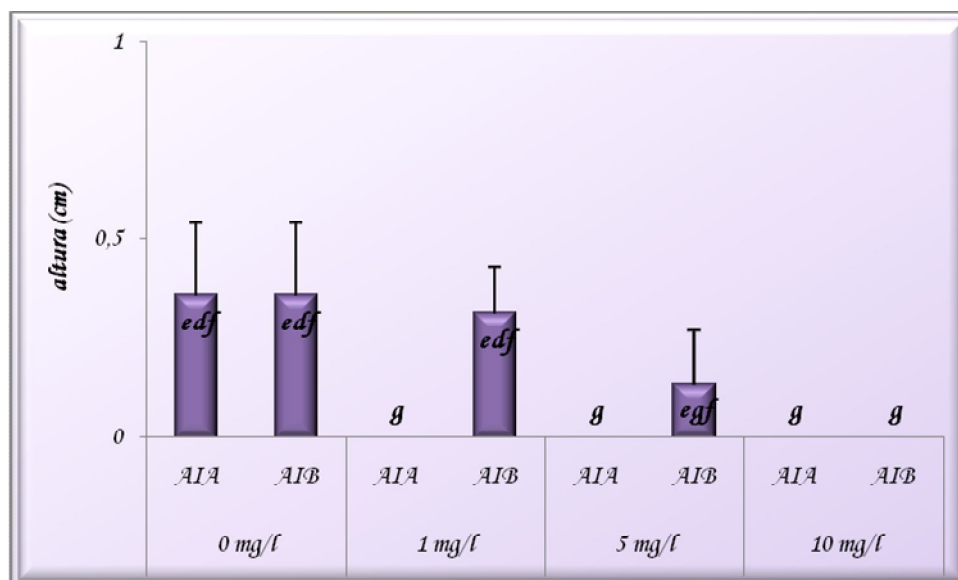


Figura 7. Explantes con brotes y raíces de la especie *S. pruinosus*
A) control, B) 5 mg/l de AIA y C) 10 mg/l de AIA. E= explante; B= brote; R=raíces; AIA= ácido indolacético.



Cuadro 7. Promedio de la altura (cm) de los brotes obtenidos de *Stenocereus pruinosus* con n=4 y error estándar.

9.3.3 Longitud de raíces

En *N. macrocephala* se desarrollaron las raíces de mayor tamaño en presencia de AIA a una concentración de 5.0 mg/l (Figura 5C), la longitud promedio fue de 5.25 cm; mientras que las de menor longitud se desarrollaron en presencia de la hormona AIA a la concentración de 1.0 mg/l (Figura 5B) cuyo promedio fue de 0.58 cm (Cuadro 8).

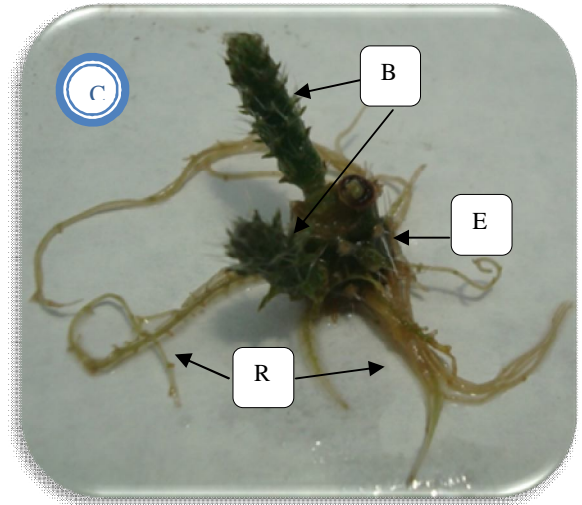
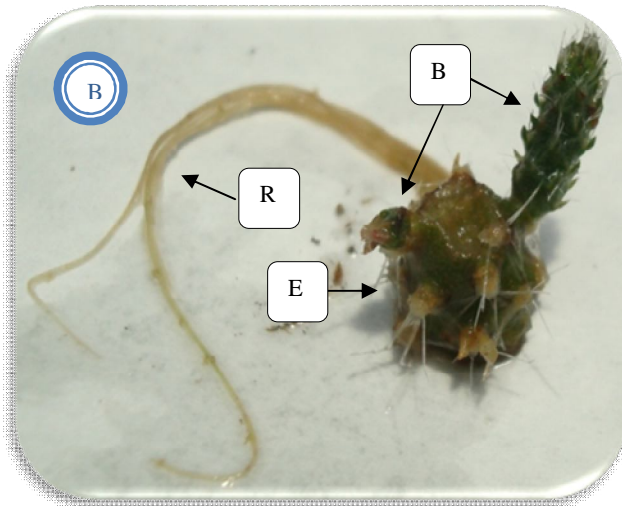
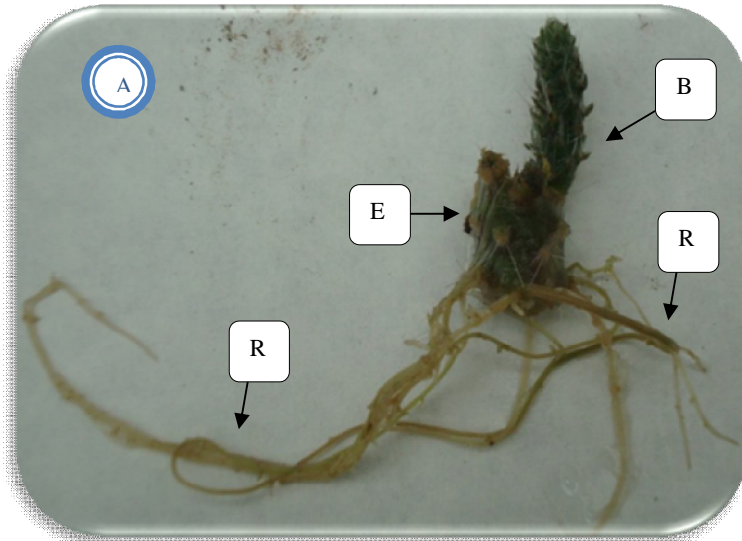
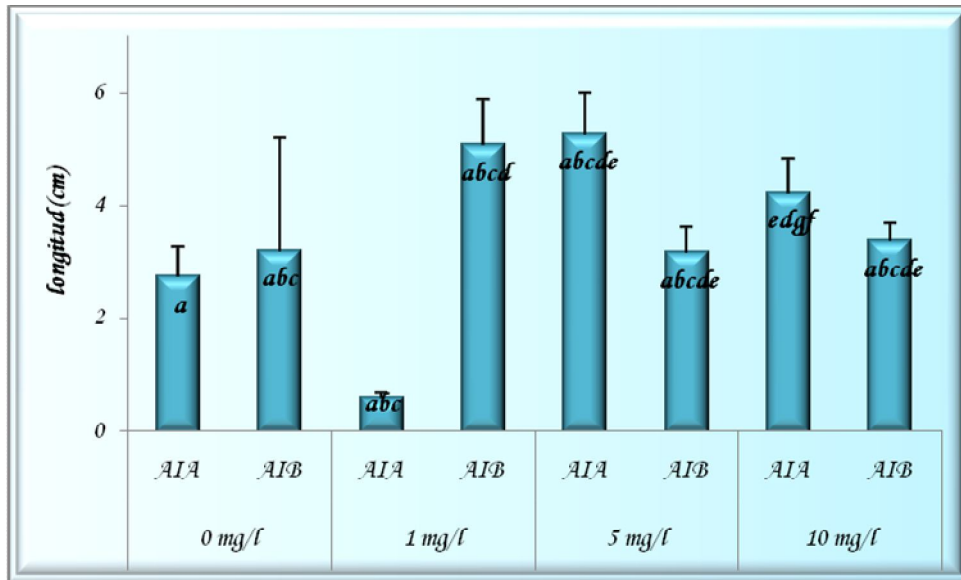


Figura 8. Explantes con brotes y raíces de la especie *N. macrocephala* A) 1.0 mg/l de AIB, B) 5.0 mg/l de AIB y C) 10 mg/l de AIB. E= explante; B= brote; R=raíces; AIB= ácido indol butírico

Nota: En las imágenes podemos observar la formación de pequeñas hojas en los brotes (datos no evaluados).



Cuadro 8. Promedio de la longitud (cm) de las raíces obtenidas de *Neobuxbaumia macrocephala* con n=4 y error estándar.

En *P. hollianus* se desarrollaron las raíces de mayor longitud con la concentración de 1.0 mg/l de la hormona AIB (Figura 9A) cuyo promedio fue de 3.53 cm, en cambio las raíces de menor longitud que en promedio midieron 0.34 cm, se desarrollaron en presencia de AIA a una concentración de 10 mg/l (Figura 6D) (Cuadro 9).

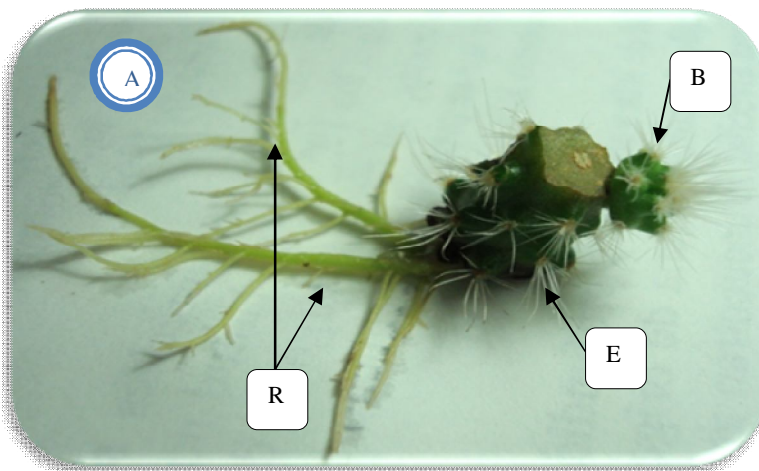
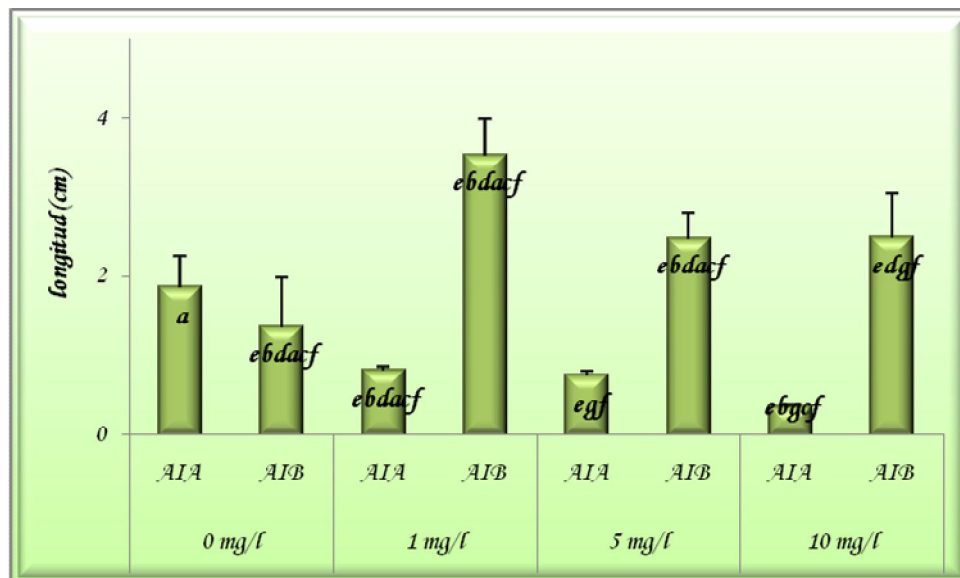
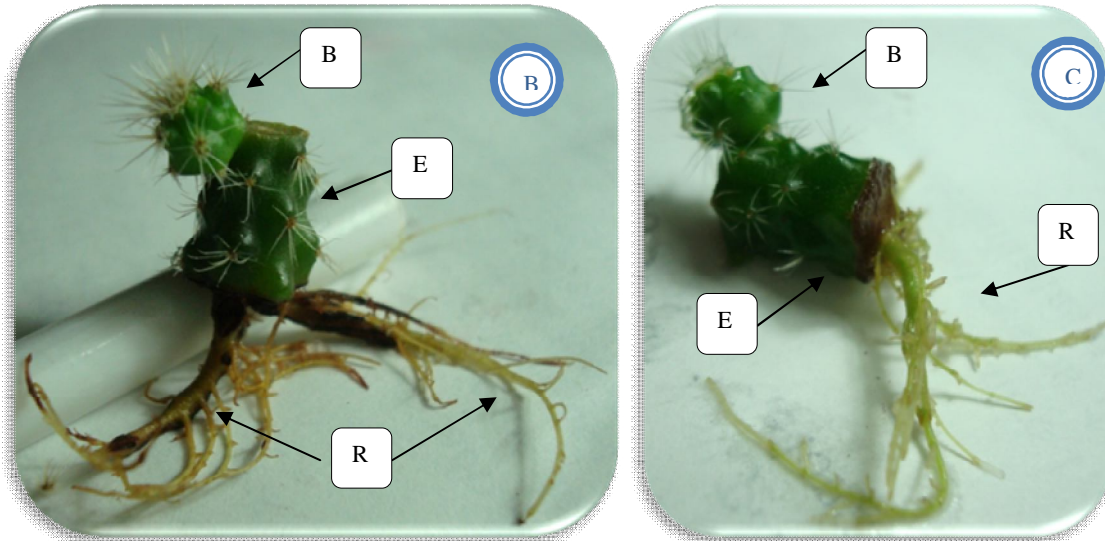


Figura 9. Explantes con brotes y raíces de la especie *P. hollianus* A) 1.0 mg/l de AIB, B) 5.0 mg/l de AIB y C) 10 mg/l de AIB. E= explante; B= brote; R=raíces; AIB= ácido indol butírico



Cuadro 9. Promedio de la longitud (cm) de las raíces obtenidas de *Pachycereus hollianus* con n=4 y error estándar.

En *S. pruinosus* se desarrollaron las raíces de mayor tamaño en el control (Figura 7A) con un promedio de 4.8 cm de largo y las de menor longitud se desarrollaron en la concentración 5.0 mg/l de la hormona AIA (Figura 7B) con un promedio de 0.9 cm de largo (Cuadro 10).

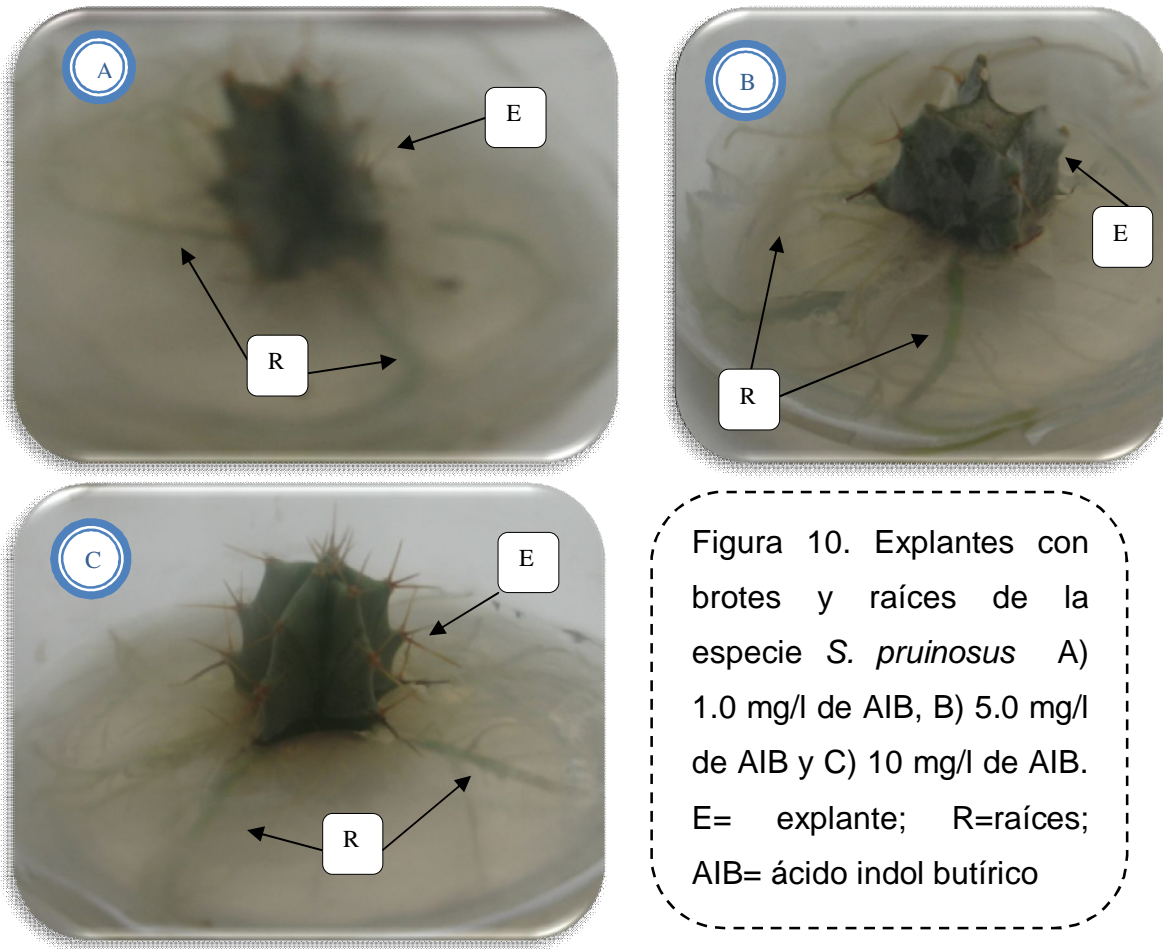
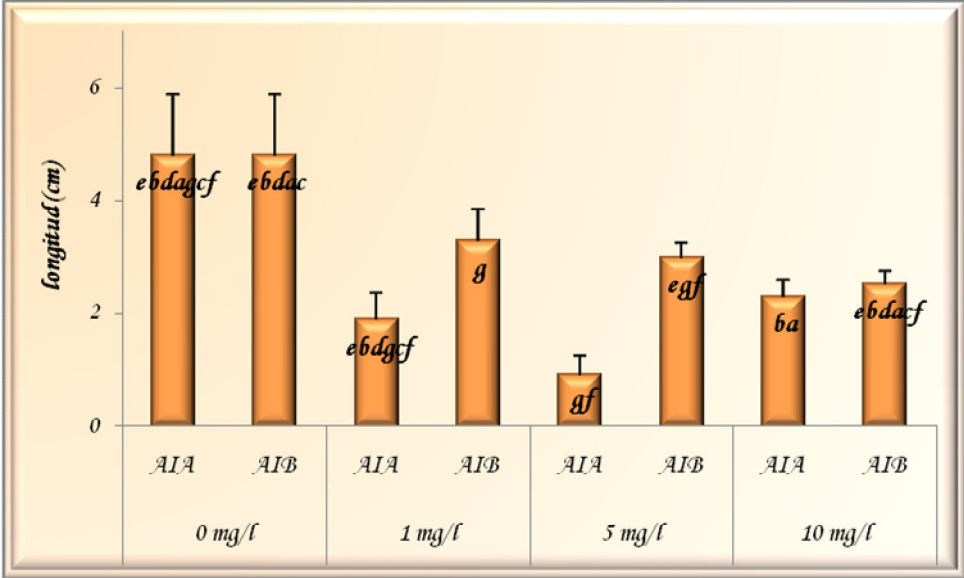


Figura 10. Explantes con brotes y raíces de la especie *S. pruinosus* A) 1.0 mg/l de AIB, B) 5.0 mg/l de AIB y C) 10 mg/l de AIB. E= explante; R=raíces; AIB= ácido indol butírico



Cuadro 10. Promedio de la longitud (cm) de las raíces obtenidas de *Stenocereus pruinosus* con n=4 y error estándar.

9.4 Análisis estadístico

Con la finalidad de saber si existieron diferencias significativas en los tratamientos con respecto al tamaño de brotes y raíces producidos a los 2 meses de cultivo entre las especies, las dos hormonas usadas y las diferentes concentraciones se realizó un análisis de varianza factorial (ANOVA de tres factores con prueba de LSD). Se encontró un coeficiente de variación para brotes del 44.70% y para raíces del 49.92% y en ninguna comparación se registraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$), sin embargo se identificaron los tratamientos que produjeron una mejor respuesta en cada una de las tres especies, en cuanto al desarrollo de raíces y brotes en un mismo explante, condición importante para el establecimiento *ex vitro* de las plantas.

Las comparaciones entre los tratamientos para la formación de brotes en las tres especies, se muestran en el cuadro 11. *Neobuxbaumia macrocephala* fue la especie en la que se desarrollaron los brotes más grandes en todos los tratamientos, mientras que la especie en la que se obtuvo una menor respuesta fue *Stenocereus pruinosus*, en la cual la mayor cantidad de brotes se formaron en el control. En *Pachycereus hollianus* se presentó una respuesta intermedia en la que se formaron brotes en presencia de las dos hormonas (AIA y AIB) a las concentraciones más bajas (1.0 y 5.0 mg/l), incluso en el tratamiento control.

Cuadro 11. Medias estadísticas obtenidas del análisis de varianza del tamaño de los brotes en la combinación especie-hormona-concentración, entre *Neobuxbaumia macrocephala*, *Pachycereus hollianus* y *Stenocereus pruinosus*.

Especie	Hormona	Concentración (mg/l)	Media	*		
<i>Neobuxbaumia macrocephala</i>	Control	0	1.499	abc		
		1.0	2.277	a		
		5.0	2.612	a		
	AIA	AIB	10	1.932	a	
			1.0	2.717	a	
			5.0	1.918	a	
		AIB	10	2.246	a	
			Control	0	0.552	dc
			AIA	1.0	0.399	ed
<i>Pachycereus hollianus</i>	AIA	5.0	0.019	gf		
		10	0.000	g		
		AIB	1.0	0.598	bdc	
	AIB	5.0	0.673	bdc		
		10	0.131	egdf		
		Control	0	0.239	edf	
	<i>Stenocereus pruinosus</i>	AIA	1.0	0.000	g	
			5.0	0.000	g	
			10	0.000	g	
AIB		1.0	0.233	edf		
		5.0	0.044	egf		
		10	0.000	g		

* Medias con la misma letra son significativamente diferentes según la prueba de LSD $\alpha=0.05$.

Las raíces de *N. macrocephala* y de *P. hollianus* se desarrollaron en presencia de las concentraciones más bajas tanto de AIA como de AIB; en cambio en *S. pruinosus* las raíces más grandes se formaron en las concentraciones más altas de ambas hormonas (Cuadro 12).

Cuadro 12. Medias estadísticas obtenidas del análisis de varianza del tamaño de raíces en la combinación especie-hormona-concentración, entre *Neobuxbaumia macrocephala*, *Pachycereus hollianus* y *Stenocereus pruinosus*.

Especie	Hormona	Concentración (mg/l)	Media	*	
<i>Neobuxbaumia macrocephala</i>	Control	0	3.056	a	
		1.0	2.827	bac	
		5.0	2.575	ebdac	
	AIB	1.0	10	1.456	edgf
			5.0	2.749	bdac
			10	2.450	ebdac
		5.0	1.0	2.157	ebdac
			5.0	3.035	a
			10	1.991	ebdacf
<i>Pachycereus hollianus</i>	Control	0	3.035	a	
		1.0	1.991	ebdacf	
		5.0	1.352	egf	
	AIB	1.0	10	1.522	edgcf
			5.0	1.956	ebdacf
			10	2.054	ebdacf
		5.0	1.0	1.447	edgf
			5.0	2.237	ebdac
			10	1.629	ebdgcf
<i>Stenocereus pruinosus</i>	Control	0	2.237	ebdac	
		1.0	1.629	ebdgcf	
		5.0	1.000	gf	
	AIB	1.0	10	3.019	ba
			5.0	0.858	g
			10	1.328	egf
		5.0	1.0	2.082	ebdacf
			5.0	1.328	egf
			10	2.082	ebdacf

* Medias con la misma letra son significativamente diferentes según la prueba de LSD $\alpha=0.05$.

10. DISCUSIÓN

En algunas especies la baja germinación está asociada al endurecimiento de la capa superficial (testa) de la semilla, lo que la hace impermeable y no permite la entrada de oxígeno ni luz para que el embrión comience a desarrollarse (Razz y Clavero, 2003); por lo que la escarificación es una herramienta empleada para la ruptura de la testa; entre los diferentes tipos de escarificaciones los más comunes son los ácidos fuertes y el agua caliente, este último se caracteriza por ser fácil, económico y de rápido acceso (Martínez, 2000). Es por ello que en el presente estudio las semillas se sometieron a un proceso de escarificación con agua caliente. Contrario a lo obtenido Navarro y Deméneghi (2007), Navarro y González (2007) y Navarro *et. al.* (2008) mencionan que no es necesario someter las semillas a tratamientos de escarificación, ya que no afectan ni favorecen la germinación.

La germinación de semillas tanto en la técnica *in vitro* como *ex vitro* dieron como resultado porcentajes mayores al 93% (Cuadro 1) lo que concuerda con lo reportado por Navarro y Deméneghi (2007), quienes probaron diferentes tratamientos de escarificación y obtuvieron el 95% de germinación de semillas de *Mammillaria pectinifera* en condiciones de invernadero, ellos concluyeron que en condiciones naturales las características de las semillas no son un impedimento y que la inhibición puede ser causada por los diferentes factores ambientales tales como luz, temperatura y humedad.

Un factor adicional que explicaría los altos porcentajes de germinación obtenidos es que se trataba de semillas jóvenes colectadas de frutos formados el año anterior a la realización de este trabajo, puesto que se ha detectado la disminución de la viabilidad de las semillas de varias especies de cactáceas en periodos mayores de un año, como lo reportado por Flores-Martínez *et al.* (2008), quienes encontraron la disminución de la viabilidad de las semillas de *Mammillaria huitzilopochtli* hasta el 13.75% en un periodo de dos años.

Por otra parte la activación de la areola a través de la ruptura de la dormancia apical es la forma más eficiente de lograr la micropropagación de las cactáceas; sin embargo, en prácticamente todos los casos reportados la activación de la areola es inducida por citocininas (Hubstenberger *et al.*, 1992; Rubluo, 1997).

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 (Taiz y Zeiger, 2006). La capacidad de producir raíces adventicias es útil para la propagación vegetativa (Dubrovsky y North, 2002). Por ello en este trabajo se consideró la formación de raíces y de brotes en los explantes, de manera que pudieran trasplantarse como plantas completas los brotes con raíces bien desarrolladas.

En el presente trabajo se obtuvo formación de brotes simultáneamente a la generación de raíces con solo la adición de auxinas al medio de cultivo. Lo que se puede explicar debido a que las auxinas hacen al ápice del brote un atrayente de citocininas sintetizadas en la raíz y este puede ser uno de los factores que intervienen en la dominancia apical (Taiz y Zeiger, 2006). Las auxinas ejercen una importante función sobre el crecimiento y desarrollo vegetal, incluyendo la emisión de brotes y la estimulación del enraizamiento cuando son aplicados exógenamente, lo que concuerda con lo reportado por Balaguera-López *et al.* (2010).

En cuanto a la micropropagación la especie *N. macrocephala* produjo los mejores resultados (Cuadros 2, 5, 8, 11 y 12 y Figuras 5 y 8), por lo que esta técnica de propagación se puede recomendar para la conservación de esta especie, lo que concuerda con Vilchis (2000) quien menciona que en su medio natural las plantas de *N. macrocephala* presentan una probabilidad de germinación muy baja (entre el 0.25% y 4.75%), así mismo presentan una reducida área de distribución, un alto endemismo, baja densidad poblacional y

limitaciones para el crecimiento poblacional, al igual que bajas tasas de crecimiento individual; también estima la edad de las plantas en relación a su altura y menciona que a mayor edad la esperanza de vida aumenta, es decir, una vez que las plántulas se han establecido con éxito sus probabilidades de mortalidad disminuyen conforme se incrementa su tamaño.

En este trabajo se obtuvo en general la mayor organogénesis de brotes y raíces con bajas concentraciones de hormonas (1.0 y 5.0 mg/l) e incluso en el control (Cuadros 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12), lo que concuerda con Olvera (2006) quien al evaluar el efecto de las auxinas AIA, AIB y p-Nitrofenil-Indol-3-acetato en la organogénesis de *Prosopis laevigata*, *Cercidium praecox* y *Mimosa luisana* obtuvo que el enraizamiento se promueve en bajas concentraciones (1.0 mg/l) de las hormonas mientras que las altas concentraciones (2.0 y 5.0 mg/l) la inhiben o disminuyen, debido a que las cantidades de hormona son requeridas a bajas concentraciones, por lo que las altas concentraciones pudieron haber sido un exceso de hormona y un bloqueo para la iniciación del enraizamiento.

El hecho de que se hayan obtenido mayores respuestas en el grupo control concuerda con Anicua y Rivas (2000), quienes obtuvieron un mayor número de brotes después de aplicar los tratamientos hormonales a *Mammillaria bocasana*, *M. carmenae* y *Echinocactus grusonii*, mencionan que esto fue probablemente porque presentaban una alta concentración de hormonas endógenas.

Rubluo *et al.* (2002) quienes al aplicar tratamientos con las auxinas AIA y AIB a *Mammillaria san-angelensis* encontraron respuesta en el control, pero estas fueron bajas, al igual que Muhammad y Faheem (2012) quienes realizaron un estudio en el que evaluaron el efecto de las auxinas AIB y ANA en *Tectona grandis* L. encontraron de bajas a nulas respuestas en el control y fue la combinación AIB+ANA ($6.0 \mu\text{mol/l}^{-1} + 6.0 \mu\text{mol/l}^{-1}$) la que presentó los resultados en cuanto a número de raíces más altos con 4.61; así mismo Viñas *et al.* (2012) quienes realizaron la propagación *in vitro* de *Hylocereus costaricensis* no obtuvieron

respuestas en el control, mientras que en las concentraciones 15, 30 y 60 μM de BAP obtuvieron arriba del 60% de brotes, y las concentraciones 40 y 60 μM presentaron morfología anormal y necrosis apical, las concentraciones que produjeron plantas normales y sanas fueron 0, 1.0 y 2.0 μM de la hormona BAP; así mismo el mayor tamaño de brotes lo obtuvieron en el control con 2.3 ± 0.2 cm y en la concentración 2.0 μM de la hormona BAP con 2.0 ± 0.1 cm.

Galván (2005) y Vyskot y Jára (1984) mencionan que la edad del explante influye significativamente en su capacidad regenerativa, concluyeron que las plantas jóvenes son más sensibles a los reguladores de crecimiento; lo que explica que en este trabajo se indujera la organogénesis en concentraciones bajas de hormonas, puesto que se trabajó con plántulas de tres meses.

Al respecto Tran Thanh Van (1978) (Citado por Anicua y Rivas, 2000) estudió la morfogénesis en capas celulares y encontró que la planta madre determina la respuesta morfogenética hacia las sustancias exógenas aplicadas y que esta condición resulta de las características inherentes de la planta madre u origen de la posición del explante.

En general ambas hormonas tanto AIA como AIB indujeron resultados similares en las tres especies (Cuadros 11 y 12), lo que concuerda con Lara (2010) quien menciona que en el cultivo de tejidos vegetales la acción de las auxinas depende de la concentración y otras hormonas adicionadas al medio, cambios en la concentración pueden hacer variar el crecimiento de las plantas, por ejemplo la concentración para la estimulación de la formación de raíz puede derivar a la inducción de callo (lo cual no ocurrió en el presente estudio); así mismo propone que cada sistema de cultivo de tejidos es único, y los efectos de diferentes concentraciones de auxinas y otras hormonas deben ser probadas individualmente y en algunos casos los resultados pueden aplicarse a otros cultivos de especies relacionadas filogenéticamente.

Así mismo Morales (2000) menciona que cada especie presenta diferentes grados de dificultad para establecer su protocolo de cultivo, desde el momento de la obtención del explante, la desinfestación, así como la determinación de los ingredientes esenciales del medio, incluyendo lógicamente los reguladores del crecimiento.

Los resultados del presente estudio sugieren que *N. macrocephala*, *P. hollianus* y *S. pruinosus* requieren de una concentración similar de auxinas para la formación de brotes y raíz; y que la aplicación de AIA o AIB en cultivo *in vitro* permite en estas especies la formación de brotes, por lo que se puede utilizar como método de propagación.

11. CONCLUSIONES

- Se obtuvieron plántulas a partir de semillas de *N. macrocephala*, *P. hollianus* y *S. pruinosus* con un porcentaje de germinación mayor al 93%.
- Se propagaron *in vitro* tres especies de cactáceas a partir de explantes de tallo y se obtuvieron brotes y raíces en cantidad y tamaño variable para cada especie y hormona.
- La generación de brotes y raíces ocurrió de forma simultánea en todos los tratamientos de todas las especies.
- *N. macrocephala* desarrolló el mayor número de brotes en el tratamiento AIA 1.0 mg/l, el mayor número de raíces en el tratamiento AIB 10 mg/l y los brotes de mayor tamaño en el tratamiento AIB 1.0 mg/l, *P. hollianus* presentó el mayor número de raíces en el tratamiento AIA 10 mg/l y *S. pruinosus* presentó los menores resultados de número de brotes en los tratamientos AIA 1.0, 5.0 y 10 mg/l y AIB 10 mg/l, número de raíces en el tratamiento AIA 5.0 mg/l y tamaño de brote en los tratamientos AIA 1.0, 5.0 y 10 mg/l y AIB 10 mg/l.

- Los brotes y raíces de mayor tamaño se desarrollaron en los controles y a las concentraciones más bajas de ambas hormonas en las tres especies.
- Las hormonas AIA y AIB presentaron resultados homogéneos en los explantes de las especies *N. macrocephala*, *P. hollianus* y *S. pruinosus*.

12. RECOMENDACIONES

Se sugiere realizar más repeticiones por tratamiento para poder disminuir las diferencias significativas y poder evidenciar de forma significativa el efecto de las hormonas sobre los explantes, así como probar diferentes auxinas a diversas concentraciones para ser aplicadas a otras cactáceas y poder comprender el delicado equilibrio de las hormonas de crecimiento para la regeneración exitosa y la micropropagación.

13. BIBLIOGRAFÍA

Alanís, G.J. y Velazco, C.G. 2008. Importancia de las cactáceas como recurso natural en el Noreste de México. *Ciencia Universidad Autónoma de Nuevo León*. 11(1):5-11.

Anicua, J. y Rivas, R.V. 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 de licenciatura. ENEP Iztacala. UNAM. 68 pp.

Arias, S. 1997. Distribución general. Editor: Suculentas Mexicanas/Cactáceas. CONABIO. México. 27 pp.

Arias-Toledo, A. A., Valverde-Valdés, M y Reyes-Santiago, J. 2001. Las plantas de la región de Zapotitlán Salinas, Puebla. Instituto Nacional de Ecología. UNAM. México, D.F. 80 pp.

Arreola-Nava, H. J. 1997. Formas de vida y características morfológicas. Editor: Suculentas Mexicanas/Cactáceas. CONABIO. México. 27 pp.

Azcona, C. A. 2009. Organogénesis directa de *Melocactus curvispinus subsp. Dawsonii* (Bravo) N.P. Taylor, 1991 a partir de explantes de tallo, y germinación *in vitro* de *Mammillaria haageana subsp. Elegans* D.R. Hunt, 1997. Tesis de licenciatura. Universidad Veracruzana. Facultad de Biología. 41 pp.

Balaguera-López, H. E., Morales, E., Almanza-Merchán, P. J. y Balaguera-López, W. A. 2010. El tamaño del cladodio y los niveles de auxina influyen en la propagación asexual de pitaya (*Selenicereus megalanthus* Haw.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 4(1): 33-42.

Barceló-Coll, J., Nicolás-Rodrigo, G., Sabater-García, B. y Sánchez-Tamés, R. 2005. Fisiología Vegetal. Ediciones pirámide. Madrid, España. 553 pp.

Bravo-Hollis, H. 1978. Las cactáceas de México. Vol. I. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 743 pp.

Casas, A. 2002. Uso y manejo de cactáceas columnares mesoamericanas. CONABIO. *Biodiversitas*.40: 18-23.

Coca, E. 2003. Aclimatación de *Mammillaria carmenae* proveniente de cultivo *in vitro*. Tesis de Licenciatura. UNAM. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. 50 pp.

Choreno-Tapia, J. M., González-Rosas, H., Terrazas-Salgado, T. y Hernández-Livera, A. 2002. Propagación *in vitro* de *Cephalocereus senilis* Haworth Pfeiffer a partir de areolas. Revista Chapingo. Serie Horticultura. 8(2): 183-196.

Díaz, B. 2007. Propagación *in vitro* de *Thelocactus rinconensis* (Poselger) Britton y Rose (Cactaceae) especie endémica amenazada. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 63 pp.

Dubrovsky, J. and North, G. 2002. Root structure and function. Editor: Cacti Biology and uses. University of California. USA. pp. 41-56.

Epstein, E. and Ludwin-Müller, J. 1993. Indole-3-butyric acid in plants: occurrence, synthesis, metabolism and transport. *Physiologia Plantarum*. 88:382-389.

Flores-Martínez, A., I. Manzanero, M.G., Rojas-Aréchiga, M., Mandujano, M.C. and Golubov, J. 2008. Seed age germination responses and seedling survival of an endangered cactus that inhabits cliffs. *Natural Areas Journal*. 28:51-57.

Galván, A. 2005. Micropropagación de *Neobuxbaumia tetetzo* (Cactaceae) del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla, con fines de conservación *ex situ*. Tesis de Licenciatura. Fes Iztacala. UNAM. 47 pp.

García-Breijo, Roselló-Caselles y Santamarina-Siurana. 2006. Introducción al funcionamiento de las plantas. Ed. Universidad Politécnica de Valencia. España. 179 pp.

González, E. 2001. Micropropagación de *Mammillaria spp.* Tesis de licenciatura. FES Cuautitlán. UNAM. 68 pp.

Hernández, M. y Godínez, M. 1994. Contribución al conocimiento de las cactáceas mexicanas amenazadas. Acta Botánica Mexicana. 26: 33-52.

Hopkins, W.G. and Hüner, N.P.A. 2009. Introduction to plant physiology. 4^a ed. John Wiley & Sons Inc. USA. pp. 305-321.

Hopkins, W.G. 1999. Introduction to plant physiology. 2^a ed. John Wiley & Sons Inc. USA. pp. 309-319.

Hubstenberger, J.F., Clayton, P.W. and Phillips, G.C. 1992. Micropropagation of Cacti (Cactaceae). Editor: Y.P.S. Bajaj (Ed.). Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol., 20, High Techniques and Micropropagation, Vol. 4. Springer, Berlin. pp. 49-68.

Lara, L. 2010. Micropropagación de *Aporocactus flagelliformis* (L.) Lem. (Cactaceae), especie endémica de México: propuesta para su conservación y aprovechamiento. Tesis de licenciatura. Facultad de ciencias. UNAM. 98 pp.

Lebgue-Keleng, T., Viramontes-Olivas, O.A., Soto-Cruz, R.A., Quiñónez-Martínez, M., Balderrama-Castañeda, S. y Aviña-Domínguez, Y.E. 2011. Cactáceas

endémicas y raras del Estado de Chihuahua, México. *TECNOCENCIA Chihuahua*. 5(1):27-33.

Martínez, P. 2000. Propagación sexual y crecimiento de plántulas de *Stenocereus treleasei* (Rose) Backeb. y micropropagación asexual de *Myrtillocactus schenckii* (J. A. Purpus). Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 46 pp.

Morales, M. E. 2000. Inducción de germinación, crecimiento de plántula y cultivo *in vitro* de pitahaya *Hylocereus undatus* (Haworth) Britton and Rose. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. 54 pp.

Muhammad, A. and Faheem, A. 2012. Effect of auxins on axillary and *denovo* shoot regeneration from *in vitro* shoot cultures derived from forced epicormic buds of teak (*Tectona grandis* L.). *Forestry Studies in China*. 14(3):180-186.

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 15:473-497.

Navarro, M. C. y Deméneghi, A. P. 2007. Germinación de semillas y efecto de las hormonas en el crecimiento de *Mammillaria pectinifera*. *Zonas Áridas*. 11(1):233-239.

Navarro, M. C. y González, E. M. 2007. Escarificación de semillas en la germinación y crecimiento de *Ferocactus robustus* (Pfeiff.) Britton & Rose (Cactaceae). *Zonas Áridas* 11(1):195-205.

Navarro, M.C., Cervantes, G. y Castellanos, J. O. L. 2008. Efecto de la escarificación de semillas en la germinación de dos especies de *Mammillaria*. *Zonas Áridas*. 12(1):97-105.

Olvera, M. 2006. Evaluación de los reguladores auxínicos AIA, AIB y p-Nitrofenil-Indol-3-Acetato de la rizogénesis de *Prosopis laevigata*, *Cercidium praecox* y *Mimosa luisana* de Zapotitlán Salinas, Puebla. Tesis de Licenciatura. Fes Iztacala. UNAM. 78 pp.

Ordóñez, M. 2003. Propagación *in vitro* de *Mammillaria voburnensis* Scheer. (Cactaceae). Tesis de licenciatura. Escuela de Biología. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 68 pp.

Pierik, R. L. M. 1990. Cultivo *in vitro* de las plantas superiores. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 300 pp.

Razz, G. y T. Clavero, C. 2003. Efecto de la escarificación, remojo y tiempos de almacenamiento sobre la germinación de *Pithecellobium dulce*. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 20:180-187.

Rubluo, A. 1997. Micropropagation in *Mammillaria*. Editor: Y.P.S. Bajaj (Ed.). Biotechnology in Agriculture and Forestry. High Techniques and Micropropagation. Vol. IV. Springer, Berlin. pp. 193-205.

Rubluo, A., Marín-Hernández, T., Duval, K., Vargas, A. and Márquez-Guzmán, J. 2002. Auxin induced morphogenetic responses in long-term *in vitro* subcultured *Mammillaria san-angelensis* Sánchez-Mejorada (Cactaceae). Scientia Horticulturae. 95:341-349.

Ruth, M. E. 1985. Las plantas. El ingenio de la naturaleza. Círculo de Lectores, S.A. 1ª. Barcelona. España. 158 pp.

Ruvalcaba-Ruiz, D., Rojas-Bravo, D. y Valencia-Botín, A.J. 2010. Propagación *in vitro* de *Coryphantha retusa* (Britton & Rose) un cactus endémico y amenazado. Tropical and Subtropical Agroecosystems. 12:139-143.

Taiz, L. and E. Zeiger. 2006. Plant physiology. 4^a. Sinauer Associates. USA. 764 pp.

Valiente-Banuet, A., Coro-Arizmendi, M., Rojas-Martínez, A., Casas, A., Godínez-Álvarez, H., Silva, C. and Dávila, P. (2002). Biotic interactions and population dynamics of columnar cacti. Editor: Flemming, T. y Valiente-Banuet, A. (Eds.). *Evolution, Ecology, and Conservation of Columnar Cacti and Their Mutualists*. University of Arizona Press. pp. 225-240.

Vilchis, B. 2000. Estudio poblacional por edades de *Neobuxbaumia macrocephala* (Cactaceae) en Zapotitlán Salinas, Puebla. Tesis de licenciatura. Facultad de ciencias. UNAM. 63 pp.

Viñas, M., Fernández-Brenes, M., Azofeifa, A. and Jiménez, V. M. 2012. *In vitro* propagation of purple pitahaya (*Hylocereus costaricensis* [F. A. C. Weber] Britton & Rose) cv. Cebra. *In vitro Cell Dev Biol Plant*. 48:469-477.

Vyskot, B. and Jára, Z. 1984. Clonal propagation of cacti through axillary buds *in vitro*. *Journal of Horticultural Science*. 59:449-452.

Zamora, H. 2007. Micropropagación de *Thelocactus bicolor* (Galeotti ex Pfeiff.) Britton & Rose (Cactaceae). Tesis de Licenciatura. Facultad de ciencias. UNAM. 45 pp.