



Polibotánica

ISSN electrónico: 2395-9525

polibotanica@gmail.com

Instituto Politécnico Nacional

México

<http://www.polibotanica.mx>

GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DE *Echinocactus platyacanthus* LINK & OTTO (CACTACEAE)

GERMINATION AND GROWTH OF *Echinocactus platyacanthus* LINK & OTTO (CACTACEAE)

Gómez-Serrano, G.; Joel Martínez, M.L. Arreguín-Sánchez y F. García Ochoa.

GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DE *Echinocactus platyacanthus* LINK & OTTO (CACTACEAE).

GERMINATION AND GROWTH OF *Echinocactus platyacanthus* LINK & OTTO (CACTACEAE).

GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DE *Echinocactus platyacanthus* LINK & OTTO (CACTACEAE)GERMINATION AND GROWTH OF *Echinocactus platyacanthus* LINK & OTTO (CACTACEAE)G. Gómez-Serrano / gosegaby2017@gmail.com

Departamento de Biofísica, Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales
 Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
 Plan de Ayala y Carpio, Col. Santo Tomás, México, Ciudad de México, 11340

Joel Martínez

Facultad de Ciencias Químicas
 Universidad Autónoma de San Luis Potosí
 Av. Dr. Manuel Nava 6, San Luis Potosí, México, 78210

M.L. Arreguín-Sánchez

Departamento de Botánica, Laboratorio de Fanerógamas
 Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas,
 Plan de Ayala y Carpio, Col. Santo Tomás, México, Ciudad de México, 11340

F. García Ochoa

Departamento de Biofísica, Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales
 Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
 Plan de Ayala y Carpio, Col. Santo Tomás, México, Ciudad de México, 11340

Gómez-Serrano, G.;
 Joel Martínez,
 M.L. Arreguín-Sánchez
 y F. García Ochoa

GERMINACIÓN Y
 CRECIMIENTO DE
Echinocactus platyacanthus
 LINK & OTTO
 (CACTACEAE)

GERMINATION AND
 GROWTH OF *Echinocactus*
platyacanthus LINK & OTTO
 (CACTACEAE)

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 52: 117-133. Julio 2021

DOI:
 10.18387/polibotanica.52.9

RESUMEN: *Echinocactus platyacanthus* es una cactácea endémica de México y es una de las plantas más sobreexplotadas por sus propiedades alimenticias ya que de ella se obtiene el dulce conocido como acitrón, presenta una amplia distribución en el país, y no se cuenta con un plan de manejo que garantice la conservación *in situ* para la producción de este dulce. Este taxón se encuentra catalogado como especie en posible riesgo de extinción. En este trabajo se estudió la germinación *in vitro* y *ex vitro* además de evaluar los efectos de los reguladores de crecimiento vegetal en respuesta al crecimiento de *E. platyacanthus* bajo condiciones controladas. Se alcanzó un 70% de germinación después de 28 días de la siembra en MS al 50% de su concentración original, seguida de un 60% en tierra negra y de un 46% en tierra negra + agrolita. El uso de la citocinina BAP en concentraciones de 0.5 mgL⁻¹ y de la auxina ANA en concentraciones de 5 mgL⁻¹ en cultivos *in vitro* aceleraron el crecimiento de los explantes apicales y basales obteniendo plántulas completas con tallas de hasta 1.8 cm de altura y 2.25 cm de diámetro, con una biomasa fresca de 2.3 g en un lapso de 70 días de cultivo después de la siembra de la semilla, por lo que la combinación de ambos protocolos de germinación y crecimiento, ofrecen una alternativa para la obtención de plántulas vigorosas en un tiempo corto para su posterior establecimiento en invernadero y su futuro aprovechamiento en la elaboración de acitrón de manera sustentable, contribuyendo así, a la protección de sus poblaciones *in situ*.

Palabras clave: *Echinocactus platyacanthus*, acitrón, germinación, crecimiento acelerado, protección especial.

ABSTRACT: *Echinocactus platyacanthus* is an endemic cactus of Mexico and, this plant, it is one of the most overexploited cacti, due to food characteristics, because from this cactus it is obtained the sweet soft known as acitron, also this cactus is widely

distributed in Mexico, but a management plan has not been created yet, in order to guarantee the *in vitro* sustainable use. In addition, it is important to note, that this specimen is listed as an extinction species risk. Consequently, the goals in this work were develop a comparative study between *in vitro* and *ex vitro* germination; in addition, to know the effects of the vegetal growth regulators for *E. platyacanthus* with controlled conditions. In this work was obtained 70% of germination after 28 days of cultivation after sowing employing 50% MS from original concentration, then 60% using black soil and 46% with black soil + agrolite. Regarding growth regulators, the cytokinin BAP or auxin ANA with 0.5 mgL⁻¹ concentration the *in vitro* culture accelerated the growth of apical and basal explants with vigorous seedlings with height size up to 1.8 cm, and diameter size of 2.25 cm, with fresh weight of 2.3 g in a period of 70 days of cultivation after sowing; consequently, the use of both protocols of germination and growth offers one alternative in short time for the production of vigorous seedling for later establishment of this specimen in greenhouse for their future consumption and acitron production, and contributing to specimens *in situ* protection.

Key words: *Echinocactus platyacanthus*, acitron, germination, accelerated growth, special protection.

INTRODUCCIÓN

Las cactáceas son un grupo de plantas con características biológicas y ecológicas particulares que las hacen vulnerables a diversos factores de perturbación naturales y humanos, además, poseen tasas bajas de crecimiento y a menudo sus ciclos de vida son largos (Álvarez *et al.*, 2017); (Castañeda-Romero *et al.*, 2016). Estas plantas se han convertido en un grupo sensible a la extinción (Jiménez-Sierra *et al.*, 2007). La familia Cactaceae presenta su máxima diversidad e importancia en el territorio mexicano con alrededor de 670 especies, de las cuales cerca del 80% son endémicas (Talonia *et al.*, 2014); (Jiménez-Sierra, 2011); no obstante, el empobrecimiento biológico de las comunidades desérticas y semidesérticas de México es causado por la extracción ilegal de ejemplares adultos completos y a la comercialización de su parénquima para la elaboración del acitrón (Jiménez-Sierra & Eguiarte, 2010).

Echinocactus platyacanthus es endémica de México y también es conocida como biznaga tonel, biznaga dulce o acitrón (Bravo Holis & Sánchez Mejorada, 1978); está ampliamente distribuida en las zonas áridas del altiplano central, así como en los estados de Oaxaca y Puebla (Guzmán *et al.*, 2003). Sin embargo, la SEMARNAT en las últimas décadas ha incluido a esta especie en la NOM-059, con el estatus de especie Pr-sujeta a protección especial (SEMARNAT, 2002), es decir, es una especie con limitaciones en su aprovechamiento por tener poblaciones reducidas; también, esta reportada en la Lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza y los Recursos Naturales (IUCN por sus siglas en inglés) en la categoría de “casi amenazada” (Hernández *et al.*, 2017), por lo que se considera importante conservar su germoplasma mediante técnicas de propagación adecuadas como las de laboratorio.

El conocimiento de los procesos reproductivos así como la dinámica poblacional de especies vegetales, permite mantener las estrategias de uso sustentable o de protección de estos recursos; al respecto, se ha reportado la simulación del crecimiento poblacional proyectado a un tiempo de 100 años para *Echinocactus platyacanthus* (Jiménez-Sierra & Matías Palafox, 2015), en este estudio se determinó que es imposible llevar a cabo la permanencia de plántulas y los estadíos de plántula a juvenil, así como de juvenil a adulto en condiciones naturales. En este sentido, es importante mencionar que algunas zonas donde esta cactácea crece, se ha encontrado que sus poblaciones son de tipo recesiva, por lo que tienen un mayor riesgo de extinguirse (Castañeda-Romero *et al.*, 2016). Al respecto, una alternativa de gran impacto y viabilidad para micropropagar especies con importancia biológica, ecológica y económica son las técnicas de cultivo *in vitro* con las que es posible controlar factores abióticos como humedad relativa, fotoperiodo, pH, entre otros, con la finalidad de obtener un gran número de plantas a partir de una o bien, de manera alterna, alcanzar porcentajes de germinación elevados, cuidando los

factores que determinan este proceso biológico (Gómez-Serrano *et al.*, 2010). La producción de plántulas depende del método empleado para efectuar el proceso de germinación y del conocimiento biológico que se tenga de la semilla. No obstante, existen especies que aún no han sido examinadas para este proceso de producción y el conocimiento biológico es muy limitado (Castillo Reyes *et al.*, 2014).

Los reportes sobre germinación para la especie *E. platyacanthus*, se basan mayormente en la aplicación de tratamientos pre-germinativos, por ejemplo, mediante el empleo de ácidos fuertes (Rosas López, 2002); (Navarro *et al.*, 2014), por inoculación con *Bacillus* spp., *Trichoderma* spp., *Glomus intraradices* y Rizobacterias haloficas (Castillo Reyes *et al.*, 2014), usando semillas provenientes de la defecación de ganado caprino (Baraza & Fernández-Osores, 2013), mediante ciclos de hidratación y deshidratación (Contreras Quiroz *et al.*, 2016); o con el uso de semillas vivíparas (Aragón-Gastélum *et al.*, 2017).

Con respecto a la micropropagación, a través de la técnica de cultivo de tejidos vegetales son escasos los estudios reportados y de manera general están dirigidos hacia la formación de brotes (Rodríguez González, 2006).

Los propósitos de este trabajo fueron estudiar la germinación *in vitro* y *ex vitro* evaluando también los efectos de los reguladores de crecimiento vegetal y acelerando la talla y la biomasa de *E. platyacanthus* para la obtención de plántulas vigorosas, que puedan mantenerse posteriormente en el invernadero como una alternativa sustentable y de conservación de las poblaciones naturales.

MATERIALES Y MÉTODO

Durante el mes de septiembre del 2017, se recolectaron porciones del tallo globoso con parte de las costillas, areolas y espinas, así como flores, frutos y semillas maduras de *E. platyacanthus* en el cerro de los Ramírez en la Localidad de San Antonio, Municipio de Tecozautla, Hidalgo, México, en las coordenadas (20° 33' 16.25760'' LN y -99° 44' 22.0020'' LW), a una altitud de 1793 m (Fig. 1). El suelo que predomina en esta zona es feozem háplico y calcárico, xerosol háplico con litosol y regosol éutrico (Rojas *et al.*, 2013). La vegetación que se observó en el lugar de la recolecta, está conformada principalmente por matorral xerófilo con biznagas *Ferocactus latispinus* (Haw.) Britton y Rose; pitaya *Isolatocereus dumortieri* (Scheidw.) Backeb.; huizache *Acacia farnesiana* (L.) Willd.; maguey *Agave americana* L., *A. lechuguilla* Torr., *A. striata* Zucc.; nopal *Opuntia joconostle* A. AC Weber, *O. tomentosa* Salm-Dyck; pirul *Schinus molle* L. y pino *Pinus cembroides* Zucc. (Fig. 2). Los materiales vegetales recolectados se prensaron y se llevaron al Laboratorio de Fanerógamas de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional (ENCB), donde se eliminó la mayor cantidad del parénquima de reserva de las muestras del tallo y se colocaron en una secadora botánica al igual que las flores y algunos frutos. Las semillas que expulsaban los frutos maduros no se incluyeron a la secadora, estos se guardaron en bolsas negras que fueron las que se utilizaron para el experimento de germinación.

Los materiales recolectados contenían frutos amarillentos, elipsoidales a globosos, de 4 a 7 cm de largo, cubiertos con tricomas y escamas, eran secos o semicarnosos con dehiscencia irregular, caracteres que corresponden a un tipo de frutos llamado cápsula (Kessler & Stuppy, 2014). Las semillas medían de 1.6 a 2.5 mm de largo, ampliamente ovadas a globulosas, testa negra a pardo oscura con tonos castaños, brillantes y reticuladas, típicas de Cactaceae (Niembro Rocas, 1989). Cuando los frutos de estas plantas están maduros es fácil reconocerlos, debido a que las cápsulas se abren y dejan salir las semillas, lo que indica la madurez en este órgano y de los elementos seminales (Fig. 3).



Fig. 1. Mapa de la zona de recolecta San Antonio Tecozautla, Hidalgo.



Fig. 2. Vegetación actual del cerro de los Ramírez.



Fig. 3. Biznaga tonel con frutos conteniendo semillas.

Las plantas recolectadas ya secas se colocaron en una cámara con cloroformo por 48 h para detener el desarrollo de huevecillos u organismos vivos de insectos o esporas de hongos. Después el material se identificó, etiquetó y el mejor espécimen se cosió en una cartulina bristol con las medidas convencionales para los herbarios, posteriormente se colocó el ejemplar seleccionado dentro de una bolsa de plástico y se metió en un congelador Tappan a -20°C por 72 h antes de incorporarlo al herbario (ENCB). Para la identificación de los ejemplares recolectados se utilizaron documentos especializados como el de la Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán (Arias *et al.*, 2012) y el de las cactáceas ornamentales del desierto Chihuahuense (Villavicencio-Gutiérrez *et al.*, 2010), finalmente el ejemplar fue depositado en la colección del herbario para formar parte del acervo (Fig. 4).



Fig. 4. *Echinocactus platyacanthus* Link & Otto.

Germinación de las semillas

In vitro.

Las semillas recolectadas en el campo se lavaron con agua y detergente en polvo de la marca ROMA® y se desinfectaron superficialmente con etanol (C_2H_5OH) al 70% v/v durante un min, seguido de una inmersión por 15 min en una solución de hipoclorito de sodio ($NaClO$) al 1.5% de cloro activo (Cl_2) y tres lavados con agua destilada estéril. Las semillas se remojaron con agua destilada durante 24 h (tratamiento pre-germinativo) y se colocaron en frascos de vidrio con 20 mL de medio nutritivo MS al 50% de su concentración original (15 gL^{-1} de sacarosa y 7 gL^{-1} de agar como agente gelificante, manteniendo un pH de 5.8). Se depositaron 25 semillas en cada frasco y se registró el porcentaje de germinación al término del experimento, se consideró que la germinación inicia cuando emerge la radícula. Todos los frascos se mantuvieron durante cuatro semanas en un cuarto de cultivo con un fotoperiodo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad a una temperatura entre 23 °C y 25 °C, con una intensidad luminosa de 364 $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$. Los experimentos se realizaron por triplicado.

Ex vitro.

Para la germinación *ex vitro*, se utilizaron semillas que se desinfectaron con el método descrito anteriormente, estas se remojaron en agua destilada estéril durante 24 h (tratamiento pre-germinativo). Las semillas se sembraron en charolas de plástico homogéneas, cada una con 25 semillas en cuatro sustratos diferentes previamente esterilizados: tierra negra + tezontle + agrolita (S1), tierra negra + agrolita (S2), tierra negra (S3) y tierra del sitio de recolecta (S4). Las semillas se sembraron superficialmente y se registró el porcentaje de germinación al final de las cuatro semanas, se consideró que esta inicia cuando emerge la radícula. Todas las charolas se mantuvieron en un cuarto de cultivo con un fotoperiodo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad, en un rango de temperatura entre 23 °C y 25°C con una intensidad luminosa de 364 $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$ y riego de una vez a la semana. Los experimentos se realizaron por triplicado.

Promoción de crecimiento *in vitro*

Para este experimento se llevó a cabo un diseño factorial de cuatro medios de crecimiento, empleando como base MS al 100% y con diferentes combinaciones de reguladores, conservando la relación de 10:1 de auxinas y citocininas: M1: 0.5 mgL^{-1} de 6-Bencilaminopurina (BAP); M2: 5 mgL^{-1} de ácido 1-naftalenacético (ANA) + 0.5 mgL^{-1} de BAP; M3: 5 mgL^{-1} de ANA y M4: MS al 100% sin reguladores de crecimiento como control (Gómez-Serrano *et al.*, 2010).

Las plántulas obtenidas de la germinación *in vitro* se seccionaron transversalmente y se obtuvieron explantes apicales y basales de aproximadamente 0.5 cm de altura, los cuales se colocaron en cada frasco de vidrio con los medios descritos anteriormente, colocando en cada frasco 10 explantes, 5 apicales y 5 basales. Todos los frascos contenían 20 mL de medio con 30 gL^{-1} de sacarosa, 7 gL^{-1} de agar como agente gelificante, manteniendo un pH de 5.8 y se colocaron en un cuarto de cultivo con un fotoperiodo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad, en un rango de temperatura de 23 °C a 25 °C y una intensidad luminosa de 364 $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$. Los experimentos se realizaron por triplicado y al cabo de seis semanas se tomaron medidas de altura y diámetro empleando un calibrador vernier Mitutoyo, modelo 530-101 con un error instrumental de ± 0.05 mm, la biomasa fresca se registró mediante una balanza digital OHAUS, modelo PR124 con una resolución de 0.0001 g.

Análisis estadístico

Para la comparación de medias en el experimento de germinación se utilizó la prueba de Tukey con $p < 0.05$ para considerar diferencia significativa entre los porcentajes finales de germinación (Wong González, 2010). Se utilizó el software estadístico MINITAB® 20.2.

El diseño experimental que se aplicó en el experimento de crecimiento acelerado fue el diseño completamente aleatorizado con un criterio de clasificación conocido como ANOVA de una

vía. Para la comparación de medias se empleó la prueba de Dunnet con un valor $p < 0.05$ para considerar que hubo diferencias significativas (Wong González, 2010). Se utilizó el software estadístico MINITAB® 20.2.

RESULTADOS

Germinación de semillas

Las plántulas germinadas en condiciones *in vitro* se observaron libres de contaminación y de oxidación con un color verde uniforme (Fig. 5a); las plántulas germinadas *ex vitro* presentaron oxidación y resultó difícil controlar la contaminación por hongos después de la cuarta semana (Fig. 5b). En ambos casos presentaron una germinación epigea que comenzó entre la segunda y tercera semana respectivamente, la cual inicia con el rompimiento de la testa (Fig. 5c), posteriormente, surge la raíz primaria, el hipocotilo y la parte inferior de los cotiledones; el epicotilo es más pequeño con respecto al hipocotilo y con presencia de areolas separadas con algunos tricomas microscópicos. La testa de la semilla es removida por el alargamiento gradual de los cotiledones, que son carnosos, poco separados entre sí, además, presentan un contorno lanceolado y ápice agudo (Osca Lluch, 2019). A la cuarta semana el epicotilo es microscópicamente visible y se empieza a formar un tallo alargado con el ápice redondeado (Fig. 5d).

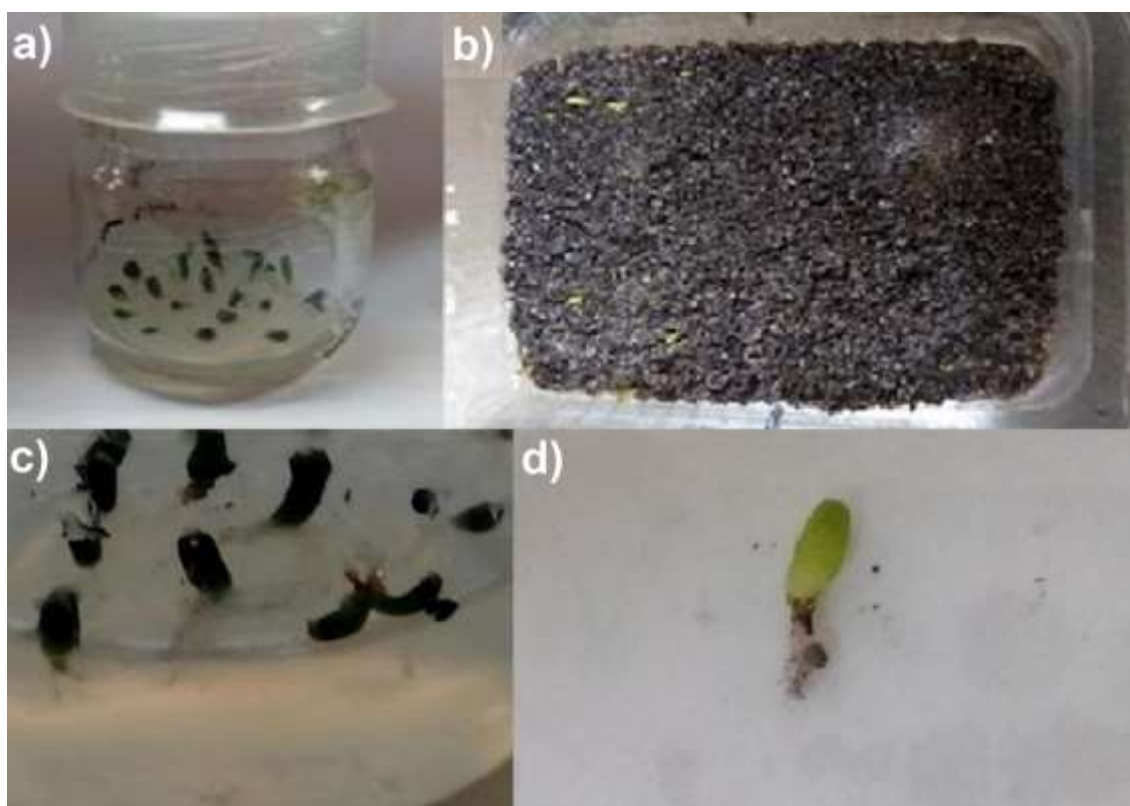


Fig. 5. Germinación de *Echinocactus platyacanthus*: a) *in vitro* b) *ex vitro* c) germinación epigea d) aspecto de una plántula de cuatro semanas.

El porcentaje de germinación más alto se obtuvo en MS al 50%, donde se alcanzó un 70% de germinación después de 28 días de cultivo, seguida de un 60% en el sustrato S3 conformado por tierra negra y un 46% en el sustrato S2 compuesto por tierra negra y agrolita; el menor porcentaje de germinación se obtuvo en el sustrato 1 conformado por la mezcla de tierra negra, tezontle y agrolita (Tabla 1).

Tabla 1. Porcentajes de germinación de *Echinocactus platyacanthus* en diferentes sustratos.

<i>In vitro</i>	<i>Ex vitro</i>			
MS 50%	Sustrato 1	Sustrato 2	Sustrato 3	Sustrato 4
70 ± 2.83 a	2 ± 2.83 c	46 ± 14.1 a,b	60 ± 0 a,b	28 ± 11.31 b,c

MS al 50%: medio de cultivo de Murashige y Skoog al 50% de su concentración original, S1: tierra negra + tezontle + agrolita, S2: tierra negra + agrolita, S3: tierra negra, S4: tierra del sitio de recolecta. Las medias que no comparten una letra tienen diferencias significativas ($p < 0.05$).

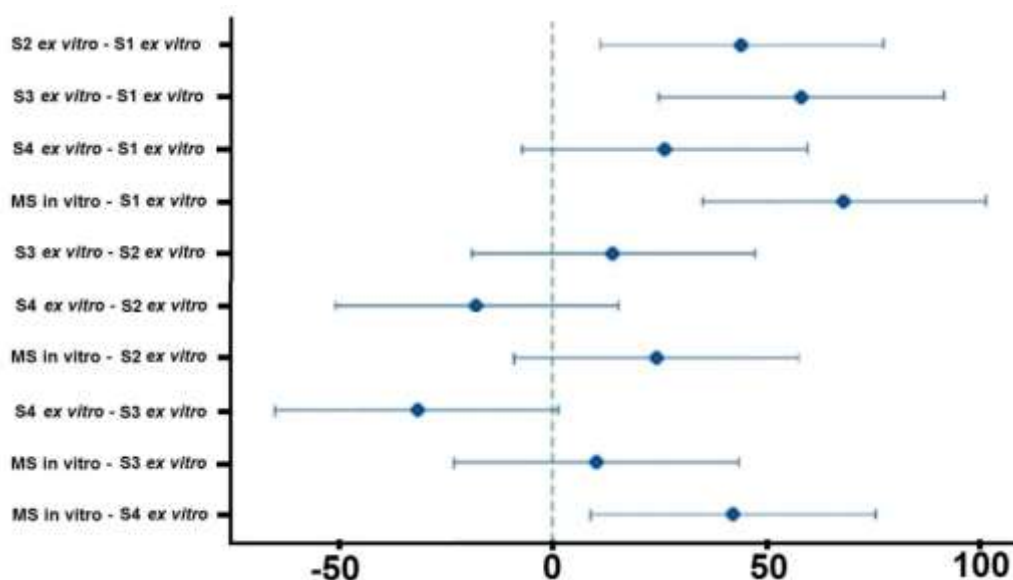


Fig. 6. Comparación de medias de porcentajes de germinación de *Echinocactus platyacanthus* con la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Si un intervalo no contiene cero, las medias correspondientes son significativamente diferentes.

El análisis estadístico reveló que las diferencias encontradas entre los porcentajes de germinación obtenidos en MS al 50% con respecto a los obtenidos en S1 (tierra negra + tezontle + agrolita) y S4 (tierra del sitio de recolecta) fueron significativamente diferentes; así como los porcentajes encontrados en el S1 (tierra negra + tezontle + agrolita) con respecto a S2 (tierra negra + agrolita) y S3 (tierra negra) (Fig. 6).

Promoción de crecimiento *in vitro*

Después de seis semanas de cultivo, todos los explantes apicales que estuvieron en contacto con reguladores de crecimiento, presentaron visiblemente un aumento en su diámetro y altura con respecto al control, los tallos desarrollaron una forma alargado-globoso, carnoso, con cuatro costillas con areolas, tricomas y espinas duras de color rojizo que sobresalen de la areola (Fig. 7a, 7b y 7c); todos los explantes desarrollaron raíces y algunos presentaron un callo no morfogénico de color café.

En la tabla 2 observamos que el análisis estadístico muestra diferencias significativas en los diámetros de los explantes apicales que crecieron en el M1 con respecto al control, alcanzando una longitud promedio de 0.94 cm; en cuanto a la altura, los explantes apicales que crecieron en los medios M2 y M3 resultaron significativamente diferentes con respecto al control, alcanzando tallas promedio de 1.747 cm y 1.783 cm respectivamente; para la variable de biomasa fresca, los explantes apicales mostraron diferencias significativas en todos los medios probados (M1, M2 y M3) con respecto al control, registrándose pesos promedio de 0.5654 g, 0.4708 g y 0.4914 g respectivamente en un periodo de 6 semanas. Con relación a los explantes basales, se observó un ligero incremento en el diámetro, pero este no resultó significativo con respecto al control en ninguno de los medios probados; en cuanto a la altura solo los que crecieron en el M3 el aumento de esta variable fue significativo, alcanzando una talla promedio de 1.047 cm; con respecto a los explantes basales que crecieron en el M1 tuvieron un aumento significativo en cuanto a su biomasa fresca alcanzando un peso promedio de 0.2552 g.

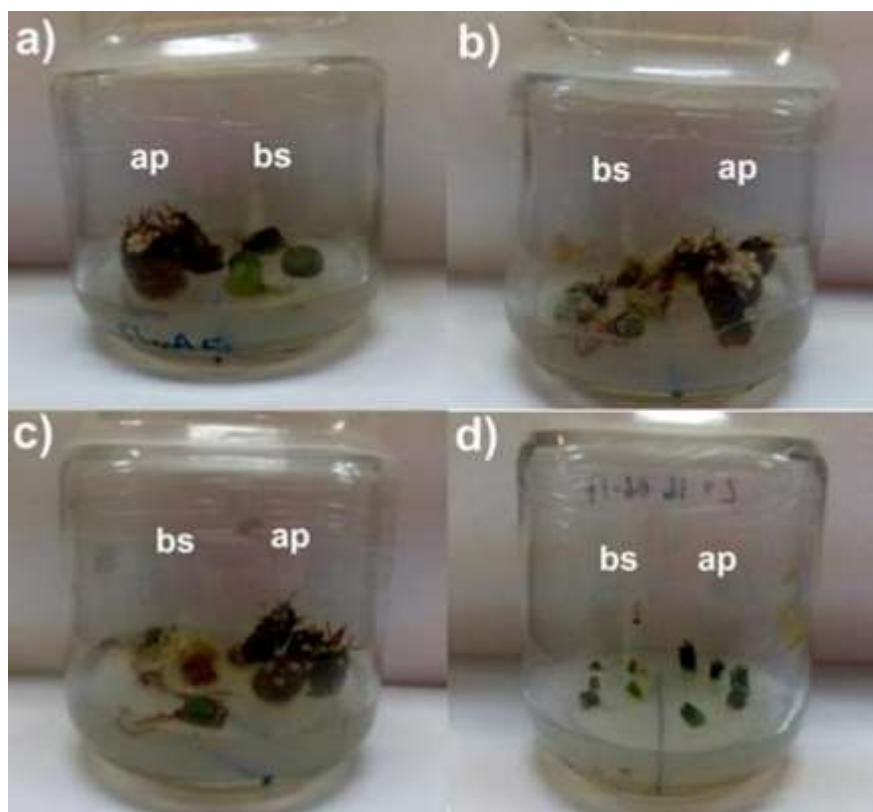


Fig. 7. Crecimiento *in vitro* de *E. platyacanthus* en: a) M1 (BAP 0.5 mgL⁻¹), b) M2 (ANA 5 mgL⁻¹+BAP 0.5 mgL⁻¹), c) M3 (ANA 5 mgL⁻¹) y d) M4 (MS 100%). ap: explantes apicales, bs: explantes basales.

Tabla 2. Diámetro, altura y biomasa promedio de *Echinocactus platyacanthus* de 6 semanas de edad en 4 medios diferentes de crecimiento.

Explante	Variable	Medio 1 BAP (0.5 mgL ⁻¹)	Medio 2 BAP (0.5 mgL ⁻¹) + ANA (5 mgL ⁻¹)	Medio 3 ANA (5 mgL ⁻¹)	Control MS 100%
Apical	Diámetro (cm)	0.94±0.6983 b	0.7533±0.2074 a	0.7033±0.1778 a	0.49±0.1713 a
	Altura (cm)	1.285±0.2583 a	1.747±0.5899 b	1.783±0.6326 b	0.9133±0.3916 a
	Biomasa fresca (g)	0.5654±0.6913 b	0.4708±0.3256 b	0.4914±0.257 b	0.1294±0.1049 a
Basal	Diámetro (cm)	0.545±0.1092 a	0.4667±0.2273 a	0.4833±0.09574 a	0.4±0.1323 a
	Altura (cm)	0.97±0.2616 a	0.79±0.3879 a	1.047±0.3749 b	0.678±0.2131 a
	Biomasa fresca (g)	0.2552±0.1171 b	0.1872±0.1439 a	0.193±0.1096 a	0.1084±0.1096 a

Se reporta la media +/- la desviación estándar. Las medias que no comparten una letra tienen diferencia significativa con respecto al control a nivel $p < 0.05$ según prueba de Dunnet.

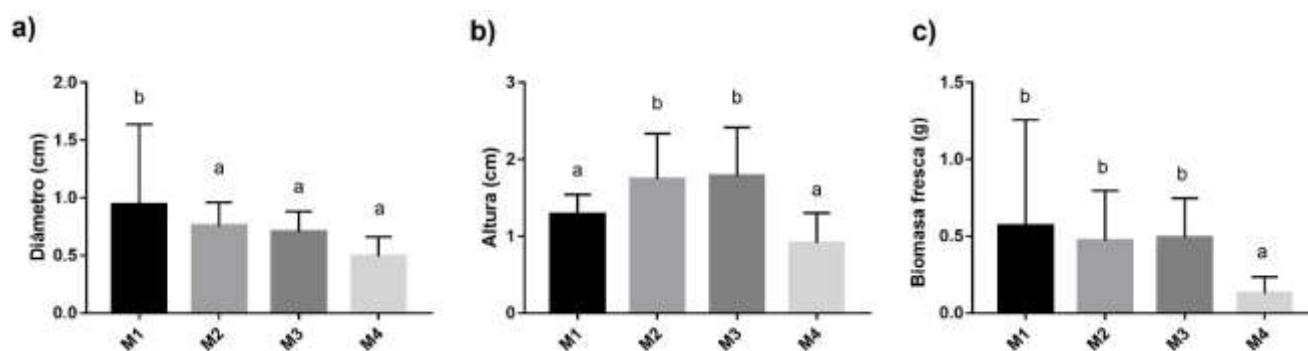


Fig. 8. Comparación de: a) diámetro apical; b) altura apical; c) peso apical en diferentes medios de cultivo M1: 0.5mgL⁻¹ BAP; M2: 5mgL⁻¹ ANA + 0.5 mgL⁻¹ BAP; M3: 5 mgL⁻¹ ANA y M4: MS al 100% sin reguladores como control. La altura de la barra representa la media con desviación estándar. Las barras que no comparten la misma letra son significativamente diferentes con respecto al control.

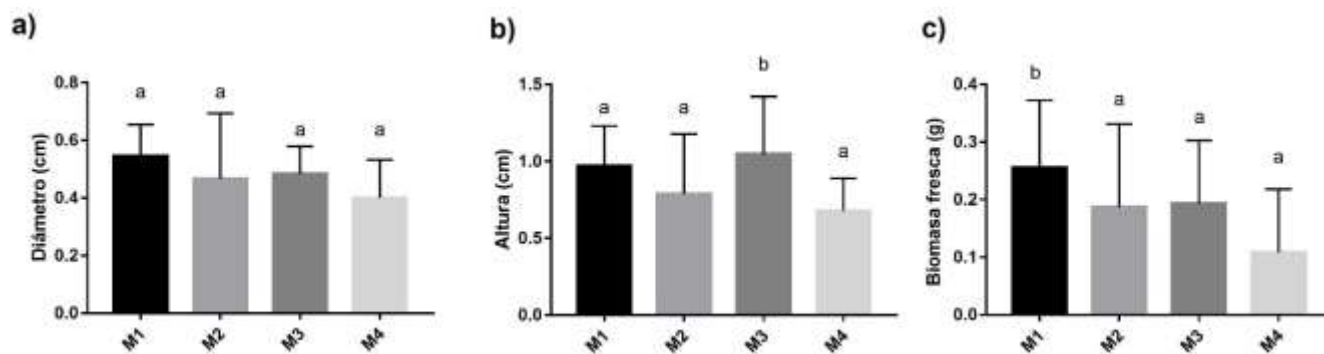


Fig. 9. Comparación de: a) diámetro basal; b) altura basal; c) peso basal en diferentes medios de cultivo M1: 0.5mgL^{-1} BAP; M2: 5mgL^{-1} ANA + 0.5mgL^{-1} BAP; M3: 5mgL^{-1} ANA y M4: MS al 100% sin reguladores como control. La altura de la barra representa la media con desviación estándar. Las barras que no comparten la misma letra son significativamente diferentes con respecto al control.

En la figura 8a y 8c se puede observar que la citocinina BAP en una concentración de 0.5mgL^{-1} , promovió un incremento significativo en los factores de diámetro y biomasa fresca de todos los explantes apicales con respecto al control; también la citocinina BAP tuvo efecto sobre el aumento de biomasa fresca en los explantes basales (Fig. 9c). Cuando la citocinina BAP se combinó con la auxina ANA en una concentración de 0.5mgL^{-1} y 5mgL^{-1} respectivamente, se observó una ganancia significativa en la altura y biomasa fresca en los explantes apicales (Fig. 8b y 8c) y cuando la auxina ANA actuó sola en concentraciones de 5mgL^{-1} tuvo un efecto estadísticamente significativo en altura (Fig. 8b) y biomasa fresca de explantes apicales (Fig. 8c); en lo que respecta a los explantes basales solo se obtuvo un efecto significativo en la altura (Fig. 9b).

DISCUSIÓN

La respuesta germinativa proporciona la base para elaborar un programa de manejo sustentable de cualquier recurso vegetal (Ruiz Barrera, 2012), por lo que es importante generar experimentos que consigan este fin. Además, se debe de tomar en cuenta que los factores importantes en la germinación de muchas especies son la luz, la humedad y la temperatura (Sánchez Soto *et al.*, 2010).

En este trabajo se contempló la aplicación de un tratamiento pre-germinativo para la semilla ya que es un factor determinante para la germinación, y este proceso es capaz de activar la semilla de un organismo seco, inactivo y latente (Contreras Quiroz *et al.*, 2016). En este sentido, la imbibición en agua de las semillas de *Echinocactus platyacanthus* durante un periodo de 24 h fue suficiente para alcanzar porcentajes altos de germinación que van del 46% al 70% (Tabla 1) lo cual coincide con lo expuesto en investigaciones previas (González-Alvarez & Valiente-Banuet, 1998); (Secorun & de Souza, 2011); (Bauk *et al.*, 2017), donde se ha reportado la experimentación con varias cactáceas, que la imbibición de las semillas en agua promueven el ablandamiento de la testa y de esta manera la radícula pueda emerger, debido a que el grosor de la testa no es muy grande y tiene una baja permeabilidad.

Es importante comentar que en varias especies de cactáceas, las semillas requieren de luz para poder germinar (Rodríguez-Ortega *et al.*, 2006) y, de acuerdo con los autores anteriores, los mayores porcentajes de germinación se obtienen a un intervalo de temperatura entre $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $30\text{ }^{\circ}\text{C}$.

°C (Barrios *et al.*, 2020); (Meiado *et al.*, 2016); (Seal *et al.*, 2017); (Bauk *et al.*, 2017); (Loza Cornejo *et al.*, 2012). También, en la bibliografía consultada se menciona que el porcentaje disminuye hasta un 50%, si la temperatura se ubica en 17 °C o en 34 °C, siendo 25 °C la temperatura óptima para *E. platyacanthus* (De La Barrera & Nobel, 2003); (Rojas-Aréchiga *et al.*, 1998); (Sánchez Soto *et al.*, 2010). En este trabajo se utilizó un rango de temperatura de 23 °C a 25 °C en todos los experimentos, el cual fue proporcionado por lámparas fluorescentes ($364 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), las cuales combinadas con un fotoperiodo de 16 h luz/8 h oscuridad, proporcionaron las condiciones óptimas para la germinación y crecimiento adecuado de plantas de *E. platyacanthus* tal y como se obtuvo para *Acourtia cordata* (Gómez-Serrano *et al.*, 2010), así como para *Gymnocalycium monvilley* (Bauk *et al.*, 2017); y *Ferocactus histrix* y *Mammillaria uncinata* (Loza Cornejo *et al.*, 2012).

De acuerdo a la Tabla 1, el mayor porcentaje de germinación obtenido para *E. platyacanthus*, es el que se llevó a cabo en condiciones *in vitro*, lo cual puede ser debido a la mayor cantidad de nutrientes y un rico contenido de sales proporcionados por el medio MS (Clayton *et al.*, 2019); (Cassells & Curry, 2001), los cuales permiten el crecimiento y un mejor desarrollo de una planta, al contener una menor cantidad de solutos y propiciar una mayor hidratación, por lo tanto cumple con las características apropiadas para que germinen y se cultiven una gran cantidad de tejidos de diferentes especies. Además los cultivos *in vitro* son sistemas cerrados, que no requieren de cuidados adicionales (Rosas López, 2002) como el uso de fungicidas que controlen el crecimiento de hongos en tierra cuando el riego es excesivo.

Se ha reportado en la literatura para *E. platyacanthus* altos porcentajes de germinación (88%) empleando escarificación química como tratamiento pre-germinativo (Rosas López, 2002), en MS al 50% en 34 días. En esta investigación el porcentaje de germinación obtenido fue del 70% de germinación en 28 días con el mismo medio, pero sin escarificación química ya que se considera que los ácidos fuertes con tiempos de exposición altos pueden dañar al embrión. Además, es conocido que los frutos junto con las semillas de *E. platyacanthus* no son carnosos, en este sentido es difícil que un animal los ingiera y, de esta forma, la posibilidad de que las semillas sean escarificadas en su tracto digestivo disminuye (Godínez-Alvarez & Valiente-Banuet, 1998).

Con respecto a la germinación *ex vitro*, en trabajos previos se obtuvieron del 61% al 94% de germinación en una mezcla de tierra de hoja más arena y tepojal, con la misma mezcla, pero con tierra negra se obtuvo el 24% de germinación con escarificación previa. (Navarro *et al.*, 2014). En este trabajo se obtuvo un 60% de germinación en el sustrato conformado por tierra negra (S3) sin escarificación y con un remojo de 24 h, seguido de un 2%, 40% y 28% en los sustratos S1, S2 y S4 respectivamente, esto puede deberse a la riqueza de nutrientes que aporta la tierra negra y a la mayor cantidad de agua que retiene.

En cuanto al crecimiento de las cactáceas, se ha descrito que estas plantas son muy sensibles en las primeras etapas de su desarrollo y, el establecimiento de nuevos individuos puede ser nulo en muchos años, por lo que el empleo de técnicas de cultivo de tejidos vegetales representa una alternativa para reducir el tiempo de propagación (Rosas López, 2002). Así, en el cultivo de tejidos vegetales es bien conocido que las citocininas y las auxinas son los reguladores de crecimiento vegetal más empleados (Stepan Sarkissian, 1990), estimulando, inhibiendo o modificando diversos procesos fisiológicos de las plantas. En la literatura se ha reportado el uso de BAP en concentraciones mayores a 1 mgL^{-1} para promover brotación en *E. platyacanthus* (Rodríguez González, 2006); (Pérez *et al.*, 1998); (Clayton *et al.*, 2019); sin embargo en este trabajo se encontró que el empleo de este regulador en concentraciones menores tiene un efecto en el aumento de talla y biomasa de los explantes de esta especie.

Al analizar la Tabla 2 se encontró que el uso de la citocinina BAP en una concentración de 0.5 mgL^{-1} y de la auxina ANA en una concentración de 5 mgL^{-1} en cultivos *in vitro* de *E. platyacanthus* promovieron un incremento significativo de las tallas de los explantes apicales

y de algunos explantes basales, dependiendo de la presencia de uno o ambos reguladores de crecimiento en los medios; lo cual coincide con lo reportado en trabajos previos en los que se encontró que estos reguladores del crecimiento dan lugar al alargamiento celular, crecimiento y espesor de tallos y están involucrados en el tropismo, así como la diferenciación de raíces (Vázquez, 2016); (Fakhrai & Fakhrai, 1990); (Pérez *et al.*, 1998); (Santos-Díaz *et al.*, 2003).

Está bien documentado que las cactáceas tienen ciclos de vida muy largos con tasas de crecimiento lentos y alta especificidad ambiental (Téllez-Román *et al.*, 2017); sin embargo en esta investigación se obtuvieron plántulas de *E. platyacanthus* con tallas más grandes que los controles, triplicando su altura, quintuplicando su diámetro y aumentando 18 veces más su biomasa fresca en un lapso de 42 días de cultivo. Cabe mencionar que todos los explantes generaron raíces; incluso los que estuvieron creciendo en MS basal sin reguladores de crecimiento, lo cual suele presentarse en varias especies de cactáceas pero en un desarrollo posterior de estas, puede haber diferencias en la morfología o en la frecuencia de enraizamiento en las raíces desarrolladas con auxinas (Clayton *et al.*, 1990), por lo que este protocolo de crecimiento *in vitro*, representa una alternativa biotecnológica para la especie en estudio.

CONCLUSIONES

Se obtuvieron altos porcentajes de germinación *in vitro* y *ex vitro* para *Echinocactus platyacanthus*, 70% en MS a la mitad de su concentración original, 60% en tierra negra y 46% en una mezcla de tierra negra+agrolita, después de 28 días de la siembra de la semilla.

El uso de la citocinina BAP en concentraciones de 0.5 mgL⁻¹ y de la auxina ANA en concentraciones de 5 mgL⁻¹ de manera aisladas o combinadas en cultivos *in vitro* aceleraron el crecimiento de los explantes apicales y basales, obteniendo plántulas vigorosas con tallas de hasta 1.8 cm de altura y 2.25 cm de diámetro, con un peso fresco de 2.3 g en un lapso de 70 días de cultivo después de la siembra de las semillas.

La combinación de los protocolos de germinación y crecimiento *in vitro*, ofrecen una alternativa para la obtención de plántulas vigorosas para su posterior establecimiento en invernadero y su futuro aprovechamiento en la elaboración de acitrón de manera sustentable, contribuyendo así, a la protección de sus poblaciones *in situ*.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Dr. Juan Nava por su apoyo en la colecta del material biológico y al M. en C. Gerónimo Peña Clímaco por permitir el uso de las instalaciones del laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales de la ENCB-IPN.

LITERATURA CITADA

- Álvarez, R., Godínez-Álvarez, H., Guzmán, U., & Dávila, P. (2017). Aspectos ecológicos de dos cactáceas mexicanas amenazadas: implicaciones para su conservación. *Botanical Sciences*, 75, 7. <https://doi.org/10.17129/botsci.1690>
- Aragón-Gastélum, J. L., Flores, J., Yáñez-Espinosa, L., Reyes-Olivas, Á., Rodas-Ortiz, J. P., Robles-Díaz, E., & González, F. J. (2017). Advantages of vivipary in *Echinocactus platyacanthus*, an endemic and protected Mexican cactus species. *Journal of Arid Environments*, 141, 56–59. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2017.01.012>
- Arias, S., Gama López, S., Guzmán Cruz, L. U., & Vázquez Benítez, B. (2012). *FLORA DEL VALLE DE TEHUACÁN-CUICATLÁN*.

- Baraza, E., & Fernández-Osores, S. (2013). The role of domestic goats in the conservation of four endangered species of cactus: Between dispersers and predators. *Applied Vegetation Science*, 16(4), 561–570. <https://doi.org/10.1111/avsc.12027>
- Barrios, D., Sánchez, J. A., Flores, J., & Jurado, E. (2020). Seed traits and germination in the cactaceae family: A review across the Americas. In *Botanical Sciences* (Vol. 98, Issue 3, pp. 417–440). Sociedad Botánica de México, A.C. <https://doi.org/10.17129/BOTSCI.2501>
- Bauk, K., Flores, J., Ferrero, C., Pérez-Sánchez, R., Las Peñas, M. L., & Gurvich, D. E. (2017). Germination characteristics of *Gymnocalycium monvillei* (Cactaceae) along its entire altitudinal range. *Botany*, 95(4), 419–428. <https://doi.org/10.1139/cjb-2016-0154>
- Bravo Holis, H., & Sánchez Mejorada, H. (1978). *Las Cactáceas de México* (2nd ed.). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Cassells, A. C., & Curry, R. F. (2001). Oxidative stress and physiological, epigenetic and genetic variability in plant tissue culture: implications for micropropagators and genetic engineers. In *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (Vol. 64).
- Castañeda-Romero, M., Luna-Contreras, M., Vela-Godínez, D., Montoya-Santiago, G., González-Bermúdez, A., Peña, R. M., & Esperón-Rodríguez, M. (2016). Nota sobre la estructura poblacional de *Echinocactus platyacanthus* (Cactaceae) en la reserva de la biósfera “Barranca de Metztitlán”, Hidalgo, México. *Acta Botanica Mexicana*, 115, 65–73.
- Castillo Reyes, F., Sánchez Chaparro, J. D., Rangel Estrada, S. E., & Canul Ku, J. (2014). Efecto de microorganismos en la promoción de la germinación de semillas de la cactácea *Echinocactus platyacanthus* Link & Otto. *Interciencia*, 39(12), 863–867.
- Clayton, P. W., Hubstenberger, J. F., Phillips, G. C., & Butler-Nance, S. A. (2019). Micropropagation of members of the Cactaceae subtribe Cactinae. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 115(2), 337–343. <https://doi.org/10.21273/jashs.115.2.337>
- Contreras Quiroz, M. del R., Pando Moreno, M., Flores, J., & Jurado, E. (2016). Effects of wetting and drying cycles on the germination of nine species of the Chihuahua Desert. *Botanical Sciences*, 94(2), 221–228.
- De La Barrera, E., & Nobel, P. S. (2003). Physiological ecology of seed germination for the columnar cactus *Stenocereus queretaroensis*. *Journal of Arid Environments*, 53(3), 297–306. <https://doi.org/10.1006/jare.2002.1050>
- Fakhrai, H. K., & Fakhrai, F. (1990). Hormonal control of growth and development. In J. W. Pollard & J. M. Walker (Eds.), *Methods in Molecular Biology Plant Cell and Tissue Culture* (pp. 49–56). The Human Press.
- Godínez-Alvarez, H., & Valiente-Banuet, A. (1998). Germination and early seedling growth of Tehuacan Valley cacti species: the role of soils and seed ingestion by dispersers on seedling growth. *Journal of Arid Environments*, 39(1), 21–31.
- Gómez-Serrano, G., Cristiani-Urbina, E., & Lilia Villegas-Garrido, T. (2010). Establecimiento de protocolos para la propagación *in vitro* de plantas de *Acaoutia cordata* (CERV.) Turner (Compositae), colectadas en la Sierra de Guadalupe. *Polibotánica*, 30, 89–110.
- Guzmán, U., Arias, S., & Dávila-Aranda, P. (2003). *Catálogo de cactáceas mexicanas*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Hernández, H., Cházaro, M., & Gómez-Hinostrosa, C. (2017). *THE IUCN RED LIST OF THREATENED SPECIES™*. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017-3.RLTS.T152537A121477917.en>
- Jiménez-Sierra, C. (2011). Las cactáceas mexicanas y los riesgos que enfrentan. *Revista Digital Univeristaria*, 12(1), 1–23.
- Jiménez-Sierra, C. L., & Eguiarte, L. E. (2010). Candy Barrel Cactus (*Echinocactus platyacanthus* Link & Otto): A Traditional Plant Resource in Mexico Subject to Uncontrolled Extraction and Browsing. In *Economic Botany* (Vol. 64, Issue 2).
- Jiménez-Sierra, C., Mandujano, M. C., & Eguiarte, L. E. (2007). Are populations of the candy barrel cactus (*Echinocactus platyacanthus*) in the desert of Tehuacán, Mexico at risk? Population projection matrix and life table response analysis. *Biological Conservation*,

- 135(2), 278–292. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2006.10.038>
- Jiménez-Sierra, C., & Matías Palafox, M. L. (2015). *Dinámica poblacional de cactáceas amenazadas*. <http://www.snib.mx/iptconabio/resource?r=SNIB-HK026#citation>
- Kessler, R., & Stuppy, W. (2014). *Frutos irresistibles, incomedibles, increíbles*. Turner. <https://www.turnerlibros.com/libro/frutos/>
- Loza Cornejo, S., Terrazas, T., & López Mata, L. (2012). Fruits, seeds and germination in five species of globose cactaceae (Cactaceae). *Interciencia*, 37, 197–203.
- Meiado, M. V., Rojas-Aréchiga, M., de Siqueira-Filho, J. A., & Leal, I. R. (2016). Effects of light and temperature on seed germination of cacti of Brazilian ecosystems. *Plant Species Biology*, 31(2), 87–97. <https://doi.org/10.1111/1442-1984.12087>
- Navarro, M. del C., Tzompa, R., & María González, E. M. (2014). Propagación de *Echinocactus platyacanthus*: efectos del sustrato, viabilidad y escarificación de semillas. *Zonas Áridas*, 15(1), 31–47.
- Niembro Rocas, A. (1989). *Semillas de plantas leñosas: morfología comparada*. Limusa.
- Osca Lluch, J. M. (2019). *Guía para el reconocimiento de plántulas de malas hierbas*. Editorial Universitat Politècnica de València.
- Pérez Molphe Balch, E., Pérez Reyes, M. E., Villalobos Amador, E., Meza Rangel, E., Morones Ruiz, L. del R., & Lizalde Viramontes, H. J. (1998). Micropropagation of 21 species of Mexican cacti by axillary proliferation. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 34(2), 131–135. <https://doi.org/10.1007/BF02822777>
- Rodríguez-Ortega, C., Franco, M., & Mandujano, M. C. (2006). Serotiny and seed germination in three threatened species of *Mammillaria* (Cactaceae). *Basic and Applied Ecology*, 7(6), 533–544. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2006.04.001>
- Rodríguez González, M. (2006). *Propagación in vitro de Echinocactus grusonii Hild., (Cactaceae), especie en peligro de extinción*. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Rojas-Aréchiga, M., Vázquez-Yanes, C., & Orozco-Segovia, A. (1998). Seed response to temperature of Mexican cacti species from two life forms: an ecophysiological interpretation. In *Plant Ecology* (Vol. 135).
- Rojas, S., Castillejos-Cruz, C., & Solano, E. (2013). Florística y relaciones fitogeográficas del matorral xerófilo en el valle de Tecozautla, Hidalgo, México. In *Botanical Sciences* (Vol. 91, Issue 3).
- Rosas López, U. Y. (2002). *Anatomía fisiológica de plántulas de cactáceas bajo estrés hídrico* [Universidad Nacional Autónoma de México]. <http://132.248.9.195/ppt2002/0313479/Index.html>
- Ruiz Barrera, C. N. (2012). *Distribución y etnobotánica de Echinocactus platyacanthus Link & Otto (Cactaceae) en el Valle del Mezquital*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Sánchez Soto, B., Reyes Olivas, Á., García Moya, E., & Terrazas, T. (2010). Germinación de tres cactáceas que habitan la región costera del noroeste de México. *Interciencia*, 35(4), 299–305.
- Santos-Díaz, M. D. S., Méndez-Ontiveros, R., Arredondo-Gómez, A., & Santos-Díaz, M. D. L. (2003). *In vitro* organogenesis of *Pelecypora aselliformis* Erhenberg (Cactaceae). *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 39(5), 480–484. <https://doi.org/10.1079/IVP2003456>
- Seal, C. E., Daws, M. I., Flores, J., Ortega-Baes, P., Galíndez, G., León-Lobos, P., Sandoval, A., Ceroni Stuva, A., Ramírez Bullón, N., Dávila-Aranda, P., Ordoñez-Salanueva, C. A., Yáñez-Espinosa, L., Ulian, T., Amosso, C., Zubani, L., Torres Bilbao, A., & Pritchard, H. W. (2017). Thermal buffering capacity of the germination phenotype across the environmental envelope of the Cactaceae. *Global Change Biology*, 23(12), 5309–5317. <https://doi.org/10.1111/gcb.13796>
- Secorun, A. C., & de Souza, L. A. (2011). Morphology and anatomy of *Rhipsalis cereuscula*, *Rhipsalis floccosa* subsp. *hohenauensis* and *Lepismium cruciforme* (cactaceae) seedlings. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82, 131–143.

Recibido:
9/octubre/2020

Aceptado:
5/julio/2021

- SEMARNAT, S. de M. A. y R. (2002). *Diario Oficial, Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001*. <https://www.biodiversidad.gob.mx/pdf/NOM-059-ECOL-2001.pdf>
- Stepan Sarkissian, G. (1990). Selection of media for tissue and cell culture. In J. W. Pollard & J. M. Walker (Eds.), *Methods in Molecular Biology Plant Cell and Tissue Culture* (pp. 1–12). The Human Press.
- Talonia, C. M., Téllez-Valdés, O., & Murguía-Romero, M. (2014). Las cactáceas del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, México: estimación de la calidad del muestreo. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(2), 436–444. <https://doi.org/10.7550/rmb.31390>
- Téllez-Román, J., López-Peralta, M. C. G., Hernández-Meneses, E., Estrada Luna, A. A., Zavaleta Mancera, H. A., & Livera Muñoz, M. (2017). Morfogénesis *in vitro* de *Mammillaria plumosa* Weber. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(4), 863–876.
- Vázquez Servín, M. de L. (2016). *Cultivo in vitro de Ariocarpus fissuratus (Engelm.) K. Schum. (Cactaceae), especie en peligro de extinción*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Villavicencio-Gutiérrez, E. E., Arredondo-Gómez, A., Carranza-Pérez, M. A., Mares-Arreola, O., Comparan-Sánchez, S., & González-Cortés, A. (2010). *Cactáceas Ornamentales del Desierto Chihuahuense que se distribuyen en Coahuila, San Luis Potosí y Nuevo León, México*. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
- Wong González, E. (2010). ¿Después de un análisis de variancia... qué? Ejemplos en ciencia de alimentos. *Agronomía Mesoamericana*, 21(2), 349–356.